



DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS REESTRUTURADOS DE CORVINA (*Argyrosomus regius*) DE AQUACULTURA

Bernardo de Carvalho Ribeiro

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar

Orientador: Doutora Teresa de Jesus Silva Matos

Co-orientador: Doutor Rogério da Silva Oliveira Mendes

Júri:

Presidente: Doutora Isabel Maria Nunes de Sousa, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Doutora Teresa de Jesus Silva Matos, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Doutor Rogério da Silva Oliveira Mendes, Investigador Auxiliar do Instituto de Investigação das Pescas e do Mar do Instituto Nacional dos Recursos Biológicos, I.P.

Lisboa, 2011



DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS REESTRUTURADOS DE CORVINA (*Argyrosomus regius*) DE AQUACULTURA

Bernardo de Carvalho Ribeiro

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar

Orientador: Doutora Teresa de Jesus Silva Matos

Co-orientador: Doutor Rogério da Silva Oliveira Mendes

Júri:

Presidente: Doutora Isabel Maria Nunes de Sousa, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Doutora Teresa de Jesus Silva Matos, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Doutor Rogério da Silva Oliveira Mendes, Investigador Auxiliar do Instituto de Investigação das Pescas e do Mar do Instituto Nacional dos Recursos Biológicos, I.P.

Lisboa, 2011

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer ao Doutor Rogério da Silva Oliveira Mendes pela oportunidade que me concedeu, em estagiar no IPIMAR, de forma a poder realizar a minha dissertação de Mestrado. Foi um grande privilégio tê-lo como meu co-orientador e agradeço todo o apoio que me deu, assim como, os conhecimentos que me transmitiu, durante o desenvolvimento deste trabalho.

Quero fazer um agradecimento muito especial ao Doutor Carlos Cardoso, por todo o conhecimento que me transmitiu, pela amizade, pelo constante apoio e pela paciência que demonstrou ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Sem a sua ajuda a realização desta dissertação não seria possível.

À minha orientadora, Professora Doutora Teresa de Jesus Silva Matos, dirijo também um grande agradecimento pela ajuda, pelo apoio e pelas ideias e sugestões que me deu, que permitiram melhorar todo este trabalho.

No Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INRB, I.P./L-IPIMAR), Unidade de Inovação e Valorização dos Produtos da Pesca e da Aquacultura, quero agradecer a todas as pessoas que me apoiaram, transmitiram conhecimentos e me disponibilizaram as condições técnicas necessárias, para a realização deste trabalho. A simpatia de todas as pessoas tornou todos os dias de trabalho muito agradáveis.

À Professora Doutora Isabel de Sousa e ao Professor Doutor Victor Alves, do Instituto Superior de Agronomia, dirijo também o meu agradecimento pela simpatia, disponibilidade, orientação e apoio técnico, durante a utilização do reómetro para a realização de medições reológicas dinâmicas.

Ao meu grande e sempre amigo Luís Croft dirijo um agradecimento muito especial.

Agradeço aos meus amigos da faculdade. São pessoas maravilhosas com as quais passei momentos únicos que nunca vou esquecer. Sem vocês este curso não teria sido certamente a mesma coisa.

À Sofia, por ter estado sempre ao meu lado e por me fazer sentir uma pessoa muito feliz. Pela companhia, paciência, força, apoio e amor que demonstrou e que me ajudaram a superar as alturas mais difíceis. Obrigado por tudo.

Por fim, quero agradecer em especial aos meus Pais, por tudo aquilo que me proporcionaram para eu chegar até aqui, assim como, a toda a minha família. À minha Mãe por todo o apoio, força e carinho que me transmitiu sempre. Ao meu Pai, pela pessoa que é, pela determinação, ajuda, persistência e força que me deu sempre, de forma a ter o maior sucesso possível. Agradeço também ao meu irmão por toda a ajuda que me deu.

Resumo

Neste trabalho foram desenvolvidos produtos de pescado reestruturados a partir da combinação de polpas de corvina e fibras dietéticas. Na primeira parte do trabalho, foi estudado o efeito da transglutaminase microbiana (MTGase) e de fibras dietéticas (fibra de ervilha, fibra de carragenato e fibra de konjac) em produtos gelificados de corvina com baixos teores de sal. A adição de MTGase teve um efeito muito favorável na gelificação, melhorando a textura e permitindo desenvolver produtos com baixos teores de sal. A fibra de ervilha também melhorou a textura dos géis. A combinação do carragenato com o konjac tornou os géis mais duros e aumentou a capacidade de retenção de água. Na segunda parte do trabalho, foram desenvolvidas salsichas de corvina com incorporação de fibra dietética antioxidante de uva (FDAU), sendo avaliada a sua estabilidade e capacidade antioxidante, ao longo de 98 dias em refrigeração ($2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), com embalagem a vácuo. A estabilidade das salsichas de FDAU foi muito boa ao longo de todo o estudo. A FDAU revelou capacidade antioxidante e parece também ter tido algum efeito antimicrobiano. A avaliação sensorial apontou para alguma perda de qualidade textural, associada à elevada granulometria da FDAU.

Palavras-Chave - Produtos gelificados de corvina, salsichas de corvina, fibras dietéticas, propriedades funcionais, conservação, novos aditivos.

Abstract

Reestructurated fish products combining minced meagre and dietary fiber were developed in this work. In the first part of the work, the combination of microbial transglutaminase (MTGase) and dietary fibers (pea fiber, carrageenan fiber and konjac fiber) entailing the production of low-salt gel products from farmed meagre, was studied. MTGase addition improved gelation and had a favourable impact on texture, enabling the development of low-salt products. Inner pea dietary fiber also improved gel texture. The combination of carrageenan and konjac hardened meagre gels and enhanced water holding capacity. In the second part of the work, meagre sausages with antioxidant grape dietary fiber (FDAU) were developed, being the stability and antioxidant capacity, analysed during 98 days in refrigeration ($2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) and vacuum-packed. Sausages were remarkably stable over storage time. The FDAU had an effective antioxidant capacity and seemed to have some antimicrobial effect. The sensory assessment only pointed to some loss of textural quality, associated to the large granulometry of FDAU.

Keywords – Meagre gel products, meagre sausage, dietary fiber, functional properties, storage stability, new-additives.

Extended Abstract

In order to diversify the commercial offers of fishery products by creating innovative, functional and healthy products, restructured fish products from farmed meagre (*Argyrosomus regius*) were developed.

In the first part of the work, innovative combinations of fish minced and dietary fiber, entailing the production of low-salt gel products from meagre were studied. The effects of microbial transglutaminase (MTGase), 0.5% (w/w) and dietary fibers (pea fiber (Swe), 4.0% (w/w) and carrageenan (Carr) + konjac (Kjc), 2.0 + 2.0% (w/w)) on meagre gels with two salt levels (2.5 and 1.0% (w/w)), were analysed. MTGase addition had a favourable impact on texture. Inner pea dietary fiber improved gel texture. The combination of carrageenan and konjac hardened meagre gels and enhanced water holding capacity. The products with low salt level + MTGase (without incorporation of dietary fiber) obtained a similar gelification quality of those top quality gels, obtained from Alaska pollock *surimi*, with values of gel strength exceeding 70 N.mm.

In the second part of the work, two groups of meagre sausage were developed and the quality changes and antioxidant capacity, during 98 days of storage experiment at $2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, were study. The first group (Control sausages) contained 3.9% (w/w) of Swe and, the second group, contained 0.9% (w/w) Swe plus 3.0% (w/w) of antioxidant grape dietary fiber (FDAU) (FDAU sausages). The Control and FDAU meagre sausages presented a high nutritional value, given their low caloric content, fatty acid profile, amino acid composition, and high dietary fiber content. Moreover, both products were remarkably stable over storage time. This was ascribed to the efficiency of the “pasteurization” process and to the preservation of the sausages under optimal conditions, vacuum-packed (40 mbar) and in refrigeration ($2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$). The FDAU had an effective antioxidant capacity, proven not only by the radical scavenging activity (RSA) and reducing power (RP) measurements, but also by the lower TBARS values over storage time. Moreover, FDAU seemed to have some antimicrobial effect, given some delay in the microbial growth of the FDAU sausages and lower levels of H_2S producer counts over storage time. The sensory assessment only pointed to some loss of textural quality, more accentuated in the FDAU sausages. This was associated to the large FDAU grains, a problem that can be addressed in the future through a more fine milling step during the preparation of FDAU.

ÍNDICE

	Pag.
1. Introdução Geral.....	1
1.1. A Aquacultura e o seu Papel.....	1
1.2. A Situação Mundial da Aquacultura.....	1
1.3. Mercado Europeu dos Produtos da Pesca e da Aquacultura.....	7
1.4. Benefícios do Consumo de Produtos da Pesca e da Aquacultura	9
1.5. Composição Bioquímica e Valor Nutricional dos Produtos da Pesca e da Aquacultura.....	10
1.5.1. Água	10
1.5.2. Compostos Azotados.....	11
1.5.2.1. Substâncias Azotadas Não-Proteicas.....	11
1.5.2.2. Proteínas	11
1.5.3. Lípidos	13
1.5.4. Colesterol	15
1.5.5. Vitaminas e Sais Minerais.....	15
1.6. Corvina-legítima	16
1.6.1. Caracterização Bioquímica da Corvina-legítima (<i>Argyrosomus regius</i>)	18
1.6.2. Produção de Corvina em Sistemas de Aquacultura	19
1.7. Produtos de Pescado Reestruturados	21
1.8. Fibras Dietéticas como Aditivos Duplamente Funcionais	24
1.9. Processo de Gelificação e Interações Químicas.....	25
1.10. Processos Térmicos – <i>Setting</i> e Cozedura	26
2. Objectivos	28
2.1. Objectivo Geral	28
2.2. Objectivos Específicos	28
2.2.1. Desenvolvimento de Produtos Gelificados com Baixos Teores de Sal a partir de Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) de Aquacultura.....	28
2.2.2. Alterações da Qualidade durante o Armazenamento em Refrigeração de Salsichas de Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) com Fibra Dietética Antioxidante de Uva.....	28
3. Desenvolvimento de Produtos Gelificados com Baixos Teores de Sal a partir de Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) de Aquacultura	29
3.1. Introdução	29
3.2. Material e Métodos	31

3.2.1. Material	31
3.2.2. Desenho Experimental.....	32
3.2.3. Produção dos Produtos Gelificados de Corvina	33
3.2.4. Determinação da Composição Química.....	34
3.2.5. Determinação do pH.....	34
3.2.6. Determinação da Capacidade de Retenção de Água.....	35
3.2.7. Determinação da Textura.....	35
3.2.8. Determinação da Cor.....	36
3.2.9. Análise Estatística.....	37
3.3. Resultados e Discussão.....	37
3.3.1. Composição Química.....	37
3.3.2. pH.....	37
3.3.3. Capacidade de Retenção de Água	39
3.3.4. Textura	40
3.3.5. Cor.....	45
3.4. Conclusão	47
4. Alterações da Qualidade, durante o Armazenamento em Refrigeração, de Salsichas de Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) com Fibra Dietética Antioxidante de Uva	48
4.1. Introdução	48
4.2. Material e Métodos	49
4.2.1. Matéria-prima, Ingredientes, Aditivos e Reagentes.....	49
4.2.2. Desenho Experimental	51
4.2.3. Produção das Salsichas de Corvina	51
4.2.4. Avaliação da Estabilidade do Produto	52
4.2.4.1. Determinação da Composição Química	52
4.2.4.2. Determinação do Perfil de Ácidos Gordos	52
4.2.4.3. Determinação da Composição em Aminoácidos	53
4.2.4.4. Determinação do Nível de Exsudação	53
4.2.4.5. Determinação de Medições Texturais e Medição Reológica Dinâmica	54
4.2.4.6. Realização de Análises Microbiológicas	54
4.2.4.7. Determinação da Cor.....	55
4.2.4.8. Determinação do pH.....	55
4.2.4.9. Determinação da Actividade de Eliminação de Radicais	55
4.2.4.10. Determinação do Poder Redutor	55

4.2.4.11. Determinação das Substâncias Reactivas ao Ácido Tiobarbitúrico	56
4.2.4.12. Análise Sensorial	56
4.2.5. Análise Estatística	57
4.3. Resultados e Discussão	57
4.3.1. Perfil Nutricional	57
4.3.2. Exsudação, Medições Texturais e Medição Reológica Dinâmica	61
4.3.3. Análises Microbiológicas	64
4.3.4. Cor e pH	67
4.3.5. Actividade de Eliminação de Radicais, Poder Redutor e Substâncias Reactivas ao Ácido Tiobarbitúrico	68
4.3.6. Análise Sensorial	71
4.4. Estimativa dos Custos de Produção das Salsichas de FDAU	74
4.5. Conclusão	75
5. Considerações Finais	76
Referências Bibliográficas	78
Anexos	91
Anexo I – Fotografias dos Produtos Gelificados de Corvina e das Salsichas de Corvina Controlo e de FDAU	92
Anexo II - Cor	94
Anexo III – Folha de Prova de Avaliação Sensorial	95

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1.1 - Explorações de aquacultura em jaulas flutuantes	3
Figura 1.2 – Produção das principais espécies de aquacultura na Europa em 2007	5
Figura 1.3 – Produção nacional em aquacultura em quantidade (mil toneladas) e valor (milhões de euros) em 2008 e 2009	6
Figura 1.4 – Produção nacional (mil toneladas) em aquacultura por tipo de água e regime (2010).....	7
Figura 1.5 – Corvina - legítima (<i>Argyrosomus regius</i>).....	16
Figura 1.6 – Distribuição geográfica da Corvina – legítima (<i>Argyrosomus regius</i>) (Asso 1801)	17
Figura 1.7 – Corvina de aquacultura com tamanho comercial de mercado.....	21
Figura 1.8 – Baader – separador mecânico para obtenção de polpas de pescado	23
Figura 3.1 – Esquema do desenho experimental das formulações dos produtos gelificados de corvina.....	32
Figura 4.1 – Composição química das salsichas de corvina (Controlo e de FDAU).....	59
Figura 4.2 – Perfil de ácidos gordos das salsichas Controlo no início e no fim do estudo.....	59
Figura 4.3 – Perfil de ácidos gordos das salsichas de FDAU no início e no fim do estudo.....	60
Figura 4.4 – Composição em aminoácidos das salsichas de corvina (Controlo e de FDAU) no início do estudo	60
Figura 4.5 – Perfil reológico dinâmico das massas das salsichas Controlo e de FDAU	64
Figura 4.6 – Parâmetros microbiológicos (logaritmo decimal) das salsichas (Controlo e de FDAU) ao longo tempo	66
Figura AI.1 – Amostra de um produto gelificado de corvina para determinação dos parâmetros texturais – Formulação E0.....	92
Figura AI.2 – Amostra de um produto gelificado de corvina para determinação dos parâmetros texturais – Formulação CaS	92
Figura AI.3 – Salsichas de FDAU após o processo de enchimento	92
Figura AI.4 – Salsichas Controlo após o processo de enchimento	93
Figura AI.5 – Salsichas Controlo embaladas a vácuo.....	93
Figura AII.1 – Representação esquemática do espaço de cores segundo o sistema CIELAB, com os parâmetros L*, a* e b*	94

ÍNDICE DE TABELAS

	Pag.
Tabela 1.1 - Consumo anual <i>per capita</i> de produtos da pesca e da aquacultura nos estados membros da UE, assim como a média da Europa e do Mundo	8
Tabela 1.2 - Perfil de ácidos gordos, teor em minerais e composição química da Corvina-legítima (<i>Argyrosomus regius</i>).....	18
Tabela 1.3 – Teor total em aminoácidos e vitaminas da Corvina-legítima (<i>Argyrosomus regius</i>)	19
Tabela 1.4 – Produção de Corvina em sistemas de aquacultura entre 1997 e 2008.....	20
Tabela 3.1 – Principais ingredientes e aditivos (% w/w) das doze formulações de produto .	33
Tabela 3.2 – Valores do pH e da Capacidade de Retenção de Água (CRA) dos produtos gelificados de corvina	38
Tabela 3.3 – Teste de dobragem, força de penetração à ruptura, deformação à ruptura, elasticidade e TPA (análise do perfil de textura a 40% de compressão) dos produtos gelificados de corvina	44
Tabela 3.4 – Força de compressão à ruptura e distância à ruptura (compressão a 80%) dos produtos gelificados de corvina	45
Tabela 3.5 – Parâmetros da cor dos produtos gelificados de corvina	46
Tabela 4.1 – Formulação das salsichas Controlo e das salsichas de FDAU.....	52
Tabela 4.2 – Propriedades texturais, exsudação e proteína ao longo do tempo das salsichas Controlo e de FDAU	63
Tabela 4.3 – Cor e pH das salsichas Controlo e de FDAU ao longo do tempo	68
Tabela 4.4 – TBARS, RSA e PR das salsichas Controlo e de FDAU ao longo do tempo de armazenamento	71
Tabela 4.5 – Parâmetros sensoriais das salsichas de corvina (Controlo e de FDAU) ao longo do tempo	73
Tabela 4.6 – Preço dos ingredientes/aditivos e quantidades utilizadas na produção de salsichas de corvina com FDAU	74

LISTA DE ABREVIATURAS

$\iota+\kappa$ - iota e kappa

14:00 – Ácido mirístico

16:00 – Ácido palmítico

18:1 ω 9 – Ácido oleico

18:2 ω 6 – Ácido linoleico

20:5 ω 3 – EPA

20:6 ω 3 – DHA

a^* - Parâmetro da cor do sistema CIELAB

A_0 – Absorvância do branco

A_1 – Área da primeira compressão (TPA)

A_2 – Área da segunda compressão (TPA)

$A_{amostra}$ – Absorvância da amostra.

AHA – American Heart Association (Associação Americana do Coração)

ALA – Alanina

ALOA – Meio cromogénico selectivo de *Listeria*

AOAC – Association of Official Analytical Chemistry

ARG – Arginina

ASP – Aspargina

b^* - Parâmetro da cor do sistema CIELAB

BD - Breaking Deformation (Deformação à ruptura)

BF – Breaking Force (Força de penetração à ruptura)

C – Produto gelificado Controlo

Carr – Fibra dietética de carragenato

CRA – Capacidade de Retenção de Água

CIELAB – Sistema de medição de cor

CVT – Contagens Viáveis Totais

DGPA - Direcção Geral das Pescas e Aquicultura

DHA – Ácido docosahexaenóico

DPPH - 1,1-difenil-2-picrilhidrazina

DRM – Dynamic Rheological Measurement (Medição Reológica Dinâmica)

E – Produto gelificado com fibra fibra de ervilha

Σ EAA – Somatório dos Aminoácidos Essenciais

EPA – Ácido eicosapentaenóico

EX – Exudation level (Nível de exsudação)

F_0 – Força registada no início da relaxação

F_1 – Força registada depois um minuto de relaxação
 FAO – Food Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação)
 FD – Fibra dietética
 FDAU – Fibra Dietética Antioxidante de Uva
 FIPS - Fisheries and Aquaculture Department, Statistics and Information Service (Serviço de Estatísticas e Informações, Departamento das Pescas e da Aquacultura)
 FT – Folding Test (Teste de dobragem)
 G' – Módulo de armazenamento
 GLU – Glutamina
 GS - Gel Strength (Força do gel)
 HSD – Diferença honestamente significativa
 IA - Lyngby Iron Agar
 INE – Instituto Nacional de Estatística
 INIA – Instituto Nacional de Investigação Agrária
 IPIMAR – Instituto de Investigação da Pescas e do Mar
 K – Produto gelificado com fibra de Carragenato + Konjac
 Kjc – Fibra dietética de konjac
 L^* - Parâmetro da cor do sistema CIELAB
 L_1 – Distancia da primeira compressão (TPA)
 L_2 – Altura detectada da amostra na segunda compressão (TPA)
 LEU – Leucina
 LYS - Lisina
 MA – Malonaldeído
 MHC – Myosin Heavy Chain (Cadeias pesadas da miosina)
 MRD - Maximum Recovery Diluent
 MRSA - Man Rogosa and Sharp Agar
 MTGase – Transglutaminase microbiana
 MUFA – Monounsaturated Fatty Acids (Ácidos gordos monoinsaturados)
 n.a – Não analisado
 Σ NEAA – Somatório dos Aminoácidos Não-Essenciais
 PA – Poliamida
 PE - Polietileno
 PENP - Plano Estratégico Nacional para a Pesca
 PUFA – Polyunsaturated Fatty Acids (Ácidos gordos polinsaturados)
 PW – Package Weight (Peso da embalagem)

PR – Poder Redutor

RSA – Radical Scavenging Activity (Capacidade de Eliminação de Radicais)

SFA – Saturated Fatty Acids (Ácidos gordos saturados)

S-S – Ligações disulfureto

SW – Sausage Weight (Peso das salsichas)

Swe – Fibra dietética de ervilha (Swelite)

T - Temperatura

TAG - Triacilgliceróis

TBARS – Thiobarbituric Acid Reactive Substances (Substâncias Reactivas ao Ácido Tiobarbitúrico)

TCA – Ácido tricloroacético

TGase - Transglutaminase

TPA - Texture Profile Analysis (Análise do perfil de textura)

TW – Total Weight (Peso total)

UFC – Unidades Formadoras de Colónias

UV – Ultra violeta

VAL – Valina

VRBGA - Violet Red Bile Glucose Agar

v/v – Volume por volume

w/v – Peso por volume

w/w – Peso por peso

WHO – World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

Y_T - Relaxação

ω_3 – Ómega 3

ω_3 PUFA – Omega 3 Polyunsaturated Fatty Acids (Ácidos gordos polinsaturados ómega 3)

ω_3/ω_6 – Razão entre ómega 3 e ómega 6

ω_6 – Ómega 6

ω_6 PUFA – Omega 6 Polyunsaturated Fatty Acids (Ácidos gordos polinsaturados ómega 6)

LISTA DE UNIDADES

$\mu\text{mol MA/g}$ – micromol de malonaldeído por grama

μm – micrómetro

€ - euro

€/kg – euro por quilo

atm – atmosfera

cm – centímetro

eq. - equivalente

x g – aceleração em múltiplos de g

g – grama

g/dia – grama por dia

g/g – grama por grama

h - hora

kcal/g – quilocaloria por grama

kDa – quilo Dalton

kg – quilograma

log UFC/g – logaritmo de unidades formadoras de colónias por grama

M - molar

mbar - milibar

mg – miligrama

mg eq. ácido ascórbico /g – miligrama equivalente de ácido ascórbico por grama

mg MA/kg – miligrama de malonaldeído por quilograma

mg/dia – miligrama por dia

mg/g – miligrama por grama

mg/kg – miligrama por quilograma

mg/ml – miligrama por mililitro

ml – mililitro

mM - milimolar

mm – milímetro

mm/min ($\text{mm} \cdot \text{min}^{-1}$) – milímetro por minuto

N – Newton

N.mm – Newton vezes milímetro

nm – nanómetro

° C – grau Célsius

Pa – Pascal

rpm – número de rotações por minuto

t – tonelada

U.g⁻¹ – unidade de actividade enzimática por grama

1. Introdução Geral

1.1. A Aquacultura e o seu Papel

Perante o crescimento continuado da população humana, encontrar novas formas de satisfazer as necessidades alimentares da humanidade consiste num dos maiores desafios da actualidade. Mesmo perante cenários económicos problemáticos, homens, mulheres e crianças necessitam de se alimentar. Uma dieta saudável, rica em proteína é essencial para que a crescente população não sucumba devido a carências alimentares.

O peixe e outros organismos aquáticos representam a melhor fonte de proteína de qualidade. Neste sentido tornou-se necessário desenvolver novas formas de produzir proteína animal. A pesca, a principal e tradicional forma de adquirir essa proteína, já não consegue suprir as necessidades humanas em matéria de produtos da pesca. A exploração intensiva dos principais bancos de pesca mundiais tem levado a uma diminuição dos recursos naturais de produtos da pesca e, à medida que se atingem os limites de exploração destes recursos, torna-se necessário, apostar em alternativas que apresentem viabilidade económica e não tenham um impacto negativo nos ecossistemas. É neste sentido que a aquacultura desempenha um papel socioeconómico cada vez mais importante (Mestre, 2008).

A aquacultura pode ser definida como a produção em cativeiro de animais (peixes, moluscos, crustáceos) ou plantas num meio aquático, em pelo menos uma fase da sua vida. A cultura destes seres vivos implica a intervenção do homem, de modo a permitir a sua propagação, manutenção e recolha em ambientes controlados. O objectivo é o aumento da produção através de práticas como a alimentação artificial, a protecção contra predadores e a integração com outras espécies (FAO, 1997; FAO, 2007; Ruiter, 1995).

1.2. A Situação Mundial da Aquacultura

As capturas da pesca e a aquacultura garantiram a nível mundial, no ano de 2008, uma produção de 142 milhões de toneladas de produtos da pesca. Dos quais, 115 milhões de toneladas foram usados para a alimentação humana e o restante teve como destino o fabrico de produtos não alimentares, produção de óleos de peixe e preparação de rações para peixes (FAO, 2010a). De todos os sectores de produção animal, a aquacultura é a actividade que cresce mais rapidamente, contribuindo actualmente, com quase metade da oferta de produtos da pesca em todo o mundo. Na última década, este sector teve um crescimento de 10,5% ao ano (Tacon, 2003). A produção global da aquacultura, incluindo peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos destinados ao consumo humano, rendeu 52,5 milhões de toneladas em 2008 (FAO, 2010a). Com alguma estagnação das

capturas, a nível mundial, e com a crescente procura de produtos da pesca, as expectativas para a aquacultura aumentar, cada vez mais o seu contributo, através da oferta de produtos da pesca, são muito elevadas (FAO, 1997; Olsen *et al.*, 2008).

A única fonte de alimento que não necessita de água doce para se desenvolver é aquela que vem dos oceanos, daí que seja expectável que a aquacultura se continue a desenvolver cada vez mais. Aumentar a produção de alimentos a partir dos oceanos ajudará a alimentar a população humana, assim como, permitirá preservar os recursos de água doce do planeta (Olsen *et al.*, 2008).

A nível global, o consumo de produtos da pesca cresceu a uma taxa de 3,6% ao ano desde 1961, aumentando de 9 kg *per capita* por ano, há meio século atrás, para 16 kg em 1997 (Anónimo (e)). Em 2008 atingiu-se o recorde de 17,1 kg *per capita* (FAO, 2010a). Entre 1990 e 2008 houve um declínio de quase 3% nas capturas da pesca, pelo que o aumento do consumo neste período se deve inteiramente ao desenvolvimento da aquacultura (Barazi-Yeroulanos, 2010).

O continente asiático tem mantido uma posição dominante no sector da aquacultura, a nível mundial, representando 88,8% dos produtos produzidos em aquacultura. A China, o maior produtor mundial de produtos da aquacultura, foi responsável pela produção de 62,3% dos produtos consumidos em 2008, em todo o mundo, o que corresponde a 32,7 milhões de toneladas. Os outros países asiáticos com produções superiores a 1 milhão de toneladas, no mesmo ano, são, a Índia (3,5 milhões de toneladas), o Vietname (2,5 milhões de toneladas), a Indonésia (1,7 milhões de toneladas), a Tailândia (1,4 milhões de toneladas), e o Bangladesh (1 milhão de toneladas) (FAO, 2008).

Apesar da longa tradição de práticas de aquacultura em alguns países ao longo de vários séculos, a aquacultura, a nível global, é um sector relativamente recente, que cresceu rapidamente nos últimos cinquenta anos. Em 1950 registava-se uma produção anual inferior a 1 milhão de toneladas passando este valor para 52,5 milhões de toneladas no ano 2008, o que significa um aumento três vezes superior à taxa de produção mundial de carne, no mesmo período (FAO, 2010a).

As carpas são a espécie de peixe mais produzida em todo o mundo. As outras espécies de aquacultura com maiores volumes de produção são, o salmão, as tilápias, o camarão e outros mariscos (ostras, amêijoas, mexilhões e vieiras) (FAO, 2008).

A nível mundial, a aquacultura já é responsável pela produção de 47% de todos os produtos da pesca consumidos e a FAO (2006), estima, de acordo com as perspectivas do aumento da população mundial, que até 2030, vai ser necessário um aumento de 37 milhões de toneladas de produtos da aquacultura, de forma a satisfazer as necessidades da procura (Barazi-Yeroulanos, 2010). Tendo em conta que a produção aquícola dos países

européus ainda é baixa e representa apenas 4% da produção mundial, esta previsão futura, representa uma oportunidade mas também um desafio para a aquacultura dos países Europeus, permitindo assegurar a auto-suficiência do continente Europeu em produtos da pesca e fortalecer a economia através do aumento das exportações.

O sector da aquacultura é hoje considerado de importância estratégica na União Europeia e nos Países Mediterrâneos, ajudando a contribuir para a segurança alimentar e disponibilizando aos consumidores uma fonte de proteína de elevada qualidade nutricional a um preço relativamente baixo (Dempster & Sanchez-Jerez, 2008; Barazi-Yeroulanos, 2010).

A maioria da produção aquícola de peixes marinhos no Norte da Europa e no Mar Mediterrâneo desenvolve-se em jaulas flutuantes localizadas em mar aberto (sistema *off-shore*) (Figura 1.1) (Dempster & Sanchez-Jerez, 2008). Este tipo de sistema tem vantagens quando comparado com as instalações em terra, que requerem elevados custos de investimento e manutenção. Outras razões são, o preço elevado que os terrenos, junto à costa, apresentam e os custos energéticos para a manutenção das instalações. A instalação de jaulas flutuantes em mar aberto permite, um ambiente mais adequado ao desenvolvimento dos peixes, os custos energéticos são mais baixos e, para uma produção intensiva, acredita-se que existem menos impactos negativos sobre o meio ambiente (Holmer *et al.*, 2008a; Olsen *et al.*, 2008; Barazi-Yeroulanos, 2010).



Figura 1.1 - Explorações de aquacultura em jaulas flutuantes. Do lado esquerdo uma exploração de produção de dourada e robalo na costa mediterrânica de Espanha; Do lado direito uma exploração de produção de salmão num fiorde na Noruega.

Fonte: Dempster & Sanchez-Jerez, 2008.

A nível europeu a Noruega é o país líder na aquacultura de peixes marinhos, com uma produção de 844 000 toneladas, no ano de 2008 (FAO, 2010a). As características geográficas deste país são ideais para a produção de espécies de águas frias, sendo a cultura do salmão do atlântico (*Salmo salar*), aquela que alcança os maiores valores de produção (Holmer *et al.*, 2008b; Dempster & Sanchez-Jerez, 2008). A Noruega está em segundo lugar na lista dos maiores exportadores mundiais de peixe, logo atrás da China (FAO, 2010a). A Escócia, a Irlanda e a Dinamarca são outros países da Europa do norte com produções aquícolas significativas e onde a produção de salmão ocupa um lugar de destaque.

A indústria da aquacultura, na área do Mediterrâneo, tem-se desenvolvido grandemente desde o seu início, quase há quarenta anos. A produção aquícola total, incluindo todas as categorias e espécies, aumentou de 487 488 toneladas em 1995 para 1 228 457 toneladas em 2007. Durante o mesmo período a produção de espécies marinhas de peixe também aumentou de 61 024 toneladas para 436 401 toneladas, enquanto a produção de moluscos diminuiu ligeiramente 184 944 toneladas para 174 385 toneladas. O Egipto, França, Espanha, Itália, Turquia e Grécia são os maiores países produtores. Dentro da UE a Espanha é o maior produtor. Na Figura 1.2, é apresentada a produção das principais espécies de aquacultura na Europa. A média anual de crescimento para o período 1985-2006, para a aquacultura marinha e de águas salobras, foi estimada em 7,6%. Ao comparar este valor, com a produtividade das capturas de pesca, que foi de – 0,67%, durante o mesmo período, confirma-se a situação de estagnação do sector pesqueiro (FAO 2009 - Fisheries and Aquaculture Department, Statistics and Information Service [FIPS], citado por, Barazi-Yeroulanos, 2010).

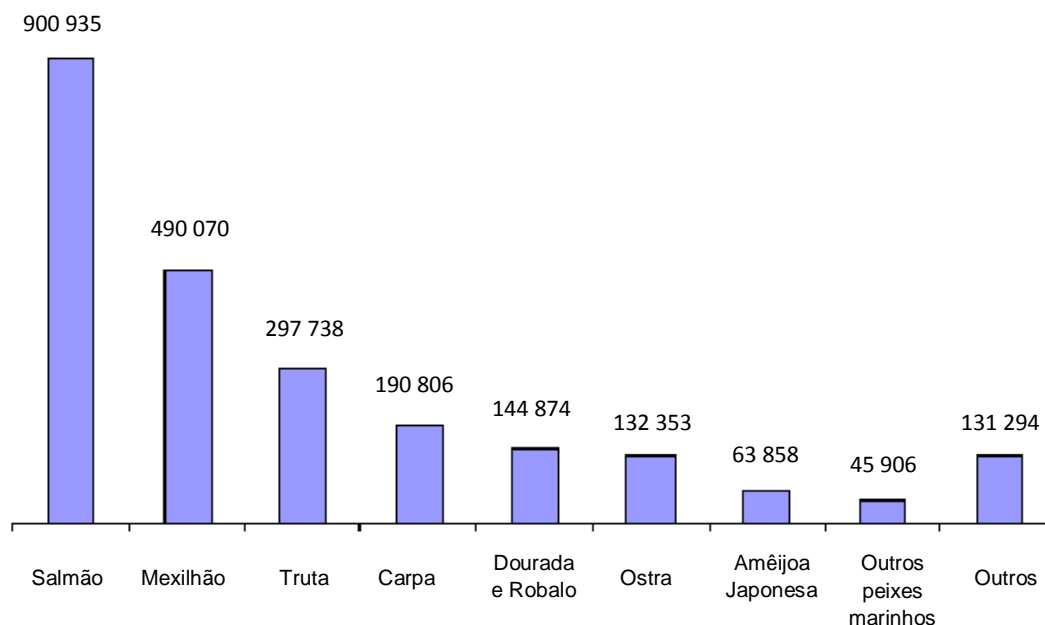


Figura 1.2 – Produção das principais espécies de aquacultura na Europa em 2007 (Toneladas).

Fonte: FAO (2009) - Aquaculture Production 1950 - 2007.

Na zona Mediterrâneo está estabelecida uma longa tradição de produção de marisco (mexilhão, amêijoia e ostra), cultura de truta e produção de algumas espécies marinhas de peixe, como é o caso do linguado - legítimo (*Solea solea*). No entanto, a produção aquícola de peixes no mediterrâneo tem-se baseado quase exclusivamente na produção de espécies de elevado valor e maior consumo, como é o caso da dourada (*Sparus aurata*) e robalo Europeu (*Dicentrarchus labrax*), que têm sido responsáveis pelo reforço da indústria (Basurco & Abellan, 1999; Holmer *et al.*, 2008a; Barazi-Yeroulanos, 2010). Para a diversificação das espécies de aquacultura do mediterrâneo, têm surgido algumas espécies emergentes com elevado potencial produtivo, como é o caso da corvina-legítima (*Argyrosomus regius*) (Quéméner *et al.*, 2002).

O desenvolvimento da indústria da aquacultura é facilitado por diversos factores geográficos e ambientais, assim como, pela proximidade de mercados viáveis. Neste sentido, os países que beneficiam de melhores condições geográficas e subsídios têm vindo a desenvolver o sector aquícola mais rapidamente. Na zona do Mediterrâneo, os países que apresentam uma indústria mais bem organizada e estruturada são: Grécia, Turquia, Espanha, França, Itália, Chipre, Malta e Egipto.

Portugal dispõe de factores naturais favoráveis para o desenvolvimento da aquacultura, no entanto, a produção nacional, não tem aumentado da forma esperada apresentando, ainda, um peso relativamente reduzido no sector da pesca (PENP, 2007).

De acordo com dados do INE (2010), no ano de 2010 foram capturadas pela frota portuguesa 222 246 toneladas de pescado. No mesmo ano a produção nacional em aquacultura foi de 7 993 toneladas, o que corresponde a cerca de 5% do sector do pescado. Através da observação do Figura 1.3, verifica-se que a produção em aquacultura se tem mantido constante nos últimos anos.

A produção nacional de pescado permite satisfazer uma procura *per capita* da ordem dos 23 kg/ano que, sendo idêntico à média comunitária, se manifesta insuficiente face aos elevados consumos registados a nível nacional (DGPA, 2007). Face a este cenário, e não sendo expectável um aumento da oferta de pescado pela via da pesca, torna-se essencial apostar na aquacultura.

As culturas em Portugal, tanto em águas marinhas como em águas salobras, são as que assumem maiores valores (Figura 1.4), assentando fundamentalmente na produção quase exclusiva de dourada, robalo, pregado e amêijoas em aquacultura marinha, e truta em água doce. Portugal também tem vindo a apostar no desenvolvimento de novas espécies emergentes, tais como, o linguado-legítimo e a corvina-legítima.

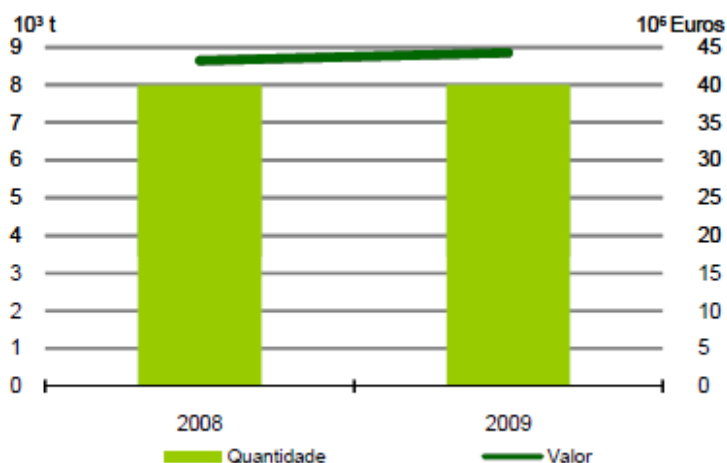


Figura 1.3 – Produção Nacional em aquacultura em quantidade (mil toneladas) e valor (milhões de euros) em 2008 e 2009.

Fonte: INE (2010)

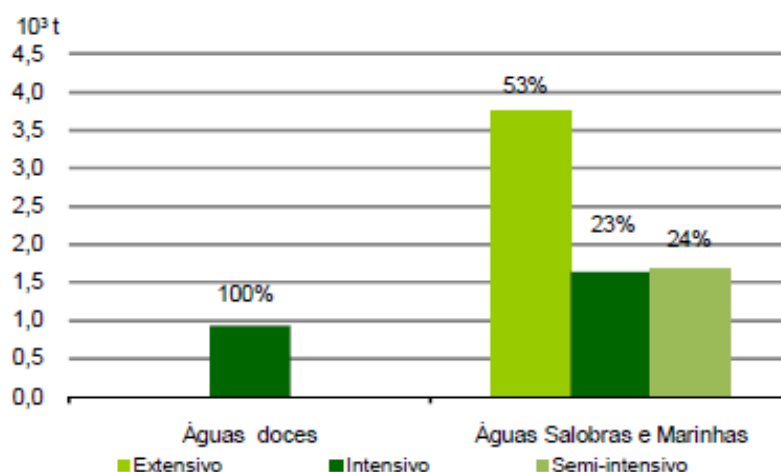


Figura 1.4 – Produção Nacional (mil toneladas) em aquacultura por tipo de água e regime (2010).

Fonte: INE (2010)

1.3. Mercado Europeu dos Produtos da Pesca e da Aquacultura

O mercado Europeu dos produtos da pesca é caracterizado por um défice dramático, as capturas de pesca diminuíram sistematicamente desde 1993, a uma média de 2% ao ano (European Commission, 2009). O total dos desembarques de pesca na União Europeia (UE) diminuiu em 30% nas últimas décadas (European Commission, 2008). Enquanto a produtividade dos recursos pesqueiros diminuiu, o consumo de produtos da pesca, nos países da UE, aumenta, e mantém-se em níveis que as águas do continente Europeu não conseguem produzir (Esteban & Crilly, 2011). Isto tem levado a que o continente Europeu seja extremamente dependente da oferta externa. Metade de todos os produtos da pesca e da aquacultura, consumidos, são provenientes de águas fora da UE (Esteban & Crilly, 2011).

Em 2008, os países da UE importaram cerca de 30 biliões de euros em peixe fresco, congelado e enlatado, dos quais 16 biliões de euros provenientes de países fora da UE. Os maiores importadores, de países fora da UE, são a Espanha com 4,7 biliões de euros, a França com 3,9 biliões de euros, e a Itália com 3,7 biliões de euros. A exportação da Europa em 2008 foi cerca de 2,7 biliões de euros (Monfort, 2010).

Os consumos de produtos da pesca e da aquacultura variam muito entre os países da UE. Como se pode ver, na Tabela 1.1, para o ano de 2007, o consumo *per capita* na Bulgária e na Hungria rondava os 4 a 5 kg por ano. No entanto, em Espanha os valores já sobem para os 44,8 kg por ano e em Portugal regista-se o recorde, com consumos anuais superiores a 60 kg.

Tabela 1.1 - Consumo anual *per capita* de produtos da pesca e da aquacultura nos estados membros da UE, assim como a média da Europa e do Mundo.

kg/ <i>per capita</i> /ano - 2007	
Portugal	61,6
Espanha	44,8
Lituânia	37,6
França	34,2
Finlândia	31,7
Malta	31,7
Suécia	28,5
Luxemburgo	28,0
Bélgica	24,2
Dinamarca	22,3
Itália	25,4
Chipre	27,3
Irlanda	21,4
Grécia	20,9
Reino Unido	20,3
Holanda	19,0
Estónia	16,4
Alemanha	15,3
Áustria	15,4
Lituânia	12,6
Republica Checa	9,9
Eslovénia	10,2
Polónia	10,9
Eslováquia	8,1
Roménia	5,3
Hungria	5,1
Bulgária	4,2
Europa	22,1
Mundo	17,1

Fonte: FAO (2008)

Entre países não são só evidentes as variações de volume mas também o tipo de produtos consumidos. Nos países do sul da Europa existe uma grande variedade de oferta de espécies, enquanto nos países mais a norte esta oferta já é mais limitada. Nos países mediterrânicos, a compra de peixe inteiro ainda é uma prática comum, ao passo que nos mercados do norte da Europa o peixe é processado e embalado em doses individuais antes de chegar ao consumidor final. No Reino Unido, 90% de todo o peixe é embalado e tem marca. Em Espanha a quantidade de peixe embalado já desce para os 35% (Monfort, 2010). Neste país, embora a venda seja maioritariamente de peixe inteiro, tem-se notado que esta tendência está em declínio (Monfort, 2010).

O consumo de pescado na UE foi cerca de 13,3 milhões de toneladas em 2007, dos quais 10,5 milhões de toneladas provenientes de peixe capturado e 2,8 milhões de toneladas

provenientes de aquacultura. Deste último valor, 1,5 milhões de toneladas corresponde a peixe e 1,3 milhões a marisco (Monfort, 2010). A posição de mercado dos produtos da aquacultura relativamente aos produtos da pesca ainda é baixa, mas está em crescimento. A aquacultura permite aliviar a pressão sobre os ecossistemas naturais, situação que pode ter um impacto positivo no aumento do consumo de produtos da aquacultura. Outro aspecto positivo resulta de os produtos da aquacultura permitirem à indústria transformadora trabalhar durante todo o ano, graças à garantia de terem sempre disponível e a um preço estável, uma matéria-prima de qualidade.

1.4. Benefícios do Consumo de Produtos da Pesca e da Aquacultura

Os produtos da pesca e da aquacultura desempenham um papel importante na alimentação humana, estimando-se que cerca de 14% da proteína animal ingerida a nível mundial seja proveniente do pescado. O número de espécies consumidas ultrapassa mesmo um milhar, no entanto, as mais apreciadas, e que apresentam um maior valor comercial, rondam as três centenas e meia. O pescado é comercializado sob diferentes formas, muitas vezes inteiro ou já eviscerado, em filetes ou postas, mas também as ovas e o fígado são igualmente consumidos (Kolakowska *et al.*, 2003).

Ao consumo de produtos da pesca e da aquacultura estão associados inúmeros benefícios nutricionais. Estes produtos são uma fonte de proteínas de elevado valor biológico pois apresentam na sua constituição todos os aminoácidos essenciais (Silva & Chamul, 2000). Apresentam, igualmente, baixos teores de colesterol e ácidos gordos saturados e são ainda pouco calóricos (Nunes *et al.*, 2003). A gordura destes produtos é constituída, na sua grande maioria, por triacilgliceróis os quais, por sua vez, são compostos por uma grande diversidade de ácidos gordos, sendo uma importante fracção destes, polinsaturados, pertencentes à série ómega 3, destacando-se os ácidos eicosapentaenóico e docosahexaenóico, conhecidos, respectivamente, pelas siglas EPA e DHA, cuja ingestão tem sido associada, a efeitos positivos para a saúde, tais como, o abaixamento da tensão arterial, redução dos níveis de triacilgliceróis no sangue, diminuição do risco de arritmias e diminuição do crescimento da placa aterosclerótica (Bang & Dyerberg, 1972; Mitchell, 1986; Kolakowska *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2008; Nunes *et al.*, 2011). Entre as principais vitaminas existentes no pescado encontram-se a A, D e E (solúveis em gordura) e, em maior quantidade, as do complexo B (solúveis em água). Ao nível dos minerais destacam-se o cálcio, fósforo, flúor, selénio e iodo (Kolakowska *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2003).

1.5. Composição Bioquímica e Valor Nutricional dos Produtos da Pesca e da Aquacultura

Os produtos da pesca constituem uma importante fonte de nutrientes e apresentam um valor nutricional semelhante ao da carne de mamíferos e aves. No entanto, actualmente, considera-se que a sua grande importância decorre da composição da gordura e de diversos micronutrientes. A composição bioquímica dos produtos da pesca varia consideravelmente de espécie para espécie e, mesmo entre indivíduos da mesma espécie, registam-se diferenças que decorrem do grau de maturação sexual, idade, sexo, zona geográfica, época do ano e disponibilidade alimentar (Huss, 1995).

No pescado de aquacultura a composição química depende, em grande parte das condições de produção, no entanto, é mais previsível, tendo em conta que a dieta é formulada e são controlados os factores de produção (genéticos, ambientais e de dimensão dos peixes), (Love, 1988).

Os principais constituintes dos produtos da pesca e da aquacultura são, a água (50 a 85%), as proteínas (12 a 24%) e os lípidos (0,1 a 22%), que representam cerca de 98% do total da fracção edível. Os restantes 2% são constituídos por compostos minoritários, entres os quais se salientam os sais minerais (0,8 a 2,0%), os hidratos de carbono e as vitaminas. O teor de hidratos de carbono é baixo e geralmente inferior a 0,5%, correspondendo esta percentagem a glicogénio e constituintes dos nucleótidos (Stansby, 1962; Love, 1970; Nunes *et al.*, 2008, Nunes *et al.*, 2011).

1.5.1. Água

A água é o principal constituinte do músculo dos produtos da pesca e aquacultura, variando, em geral, entre 55 e 80% em função da espécie e da época do ano (Nunes *et al.*, 2008). A água desempenha um papel importante no processo de conservação do pescado, sendo, em grande parte, responsável pela textura do músculo e pela sua alteração (Sainclivier, 1983). Nas espécies magras, a percentagem de água situa-se perto dos 80%, enquanto nas espécies gordas representa cerca de 70% (Nunes *et al.*, 2008). Segundo Stansby (1962), existe uma relação inversa entre o teor lipídico e o conteúdo em água do tecido muscular do pescado, sendo, a soma de ambos, próxima de 80%.

1.5.2 Compostos Azotados

Os compostos azotados que se encontram na parte muscular dos produtos da pesca e da aquacultura são constituídos, essencialmente, por proteínas (80 a 90%) e substâncias azotadas não-proteicas (Nunes *et al.*, 2008).

1.5.2.1. Substâncias Azotadas Não-Proteicas

Os compostos azotados não-proteicos compreendem as substâncias de baixa massa molecular solúveis em água, entre as quais se salientam as bases voláteis (amoníaco, metilamina, dimetilamina, e trimetilamina), o óxido de trimetilamina, a creatina, os aminoácidos livres, os nucleótidos, as bases purínicas e a ureia. Esta fracção de compostos constitui entre 9 a 18% do azoto total do pescado (Huss, 1995). Estes compostos influenciam as características sensoriais dos produtos da pesca e da aquacultura, tendo também um papel relevante no processo de deterioração dos mesmos (Nunes *et al.*, 2008).

1.5.2.2. Proteínas

As proteínas são importantes para o crescimento e desenvolvimento do corpo humano, manutenção e reparação dos tecidos, assim como para a produção de enzimas e hormonas necessárias ao organismo. As proteínas dos produtos da pesca e da aquacultura contêm todos os aminoácidos essenciais e, tal como, as proteínas do leite, dos ovos e da carne dos mamíferos, apresentam um elevado valor biológico, sendo por isso consideradas de elevada qualidade (Huss, 1995; Silva & Chamul, 2000; Nunes *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2011). Os aminoácidos predominantes nos produtos da pesca e aquacultura são usualmente a lisina e a leucina e, quanto aos não essenciais, o ácido aspártico e o ácido glutâmico são os mais abundantes (Nunes *et al.*, 2011).

Ao consumo de produtos da pesca e da aquacultura está associada uma boa digestibilidade, devendo-se isto ao facto de o músculo do pescado conter um teor inferior, de proteínas do tecido conjuntivo, ao existente no músculo das carnes vermelhas ou carnes de aves (Belitz, 2009; Nunes *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2011). Outras razões, para a boa digestibilidade, são o facto de as proteínas do peixe serem menos estáveis ao calor do que as proteínas dos mamíferos (Nunes *et al.*, 2011; Belitz, 2009). A desnaturação proteica induzida pela ureia ocorre mais facilmente e a hidrólise proteica pela tripsina também é mais rápida (Belitz, 2009).

De acordo com, Huss (1995), as proteínas do músculo do pescado podem organizar-se em três grupos de acordo com as suas características físico-químicas:

- As proteínas miofibrilhares ou estruturais (actina, miosina, tropomiosina, actomiosina), que fazem parte do sistema contráctil do músculo e representam 70 a 80% do total das proteínas.
- As proteínas sarcoplasmáticas (mioglobina, globulina e múltiplas enzimas), que são responsáveis por funções bioquímicas nas células e constituem 25 a 30% das proteínas do músculo.
- As proteínas do tecido conjuntivo são proteínas extracelulares (colagénio e elastina) e funcionam como suporte das fibras. O colagénio é o constituinte maioritário, mais de 90% sendo o restante elastina (Belitz, 2009). Estas proteínas correspondem a cerca de 3% das proteínas nos peixes ósseos e a 10% nos peixes cartilagosos.

A conformação estrutural das proteínas do pescado é fácil de modificar através da alteração das condições do meio. O tratamento com concentrações elevadas de sal ou calor levam há desnaturação da estrutura proteica nativa, ficando esta irreversivelmente modificada (Huss, 1995). Quando as proteínas são desnaturadas sob condições controladas, as suas propriedades podem ser aproveitadas para fins tecnológicos. Um bom exemplo é a produção de *surimi* (termo japonês usado para definir polpa de pescado após lavagem e estabilização com crioprotectores) e outros produtos feitos à base de polpas de pescado, devido à capacidade das proteínas miofibrilhares formarem um gel (Huss, 1995). Para além da capacidade gelificante das proteínas miofibrilhares do pescado, estas também apresentam boas propriedades estruturais e funcionais, como é o caso da capacidade de retenção de água, capacidade emulsificante e propriedades texturais (Venugopal & Shahidi, 1995).

As proteínas miofibrilhares são as principais proteínas das fibras musculares. A composição em aminoácidos destas proteínas é mais ou menos semelhante àquelas que constituem os músculos dos mamíferos, no entanto, as propriedades físicas diferem ligeiramente (Huss, 1995). A miosina é uma proteína relativamente grande, com um peso molecular de 470 kDa (Bechtel, 1986) e tem propriedades fibrosas (estrutura linear - forma alongada) e globulares (forma esférica). Cada miosina é composta por duas (~220 kDa) cadeias pesadas (MHC) de aminoácidos e dois pares de cadeias leves (<22 kDa) (Lowey & Risby, 1971). Cerca de 55 a 66% das proteínas miofibrilhares, corresponde a miosina e é a quantidade e as características (conformação), desta proteína, que fazem dela a mais importante para a formação de interacções químicas, subjacentes ao fenómeno de

gelificação. A actina (compreende 15 – 30% das proteínas miofibrilhares) é uma proteína globular com um peso molecular de 43 kDa (Lanier *et al.*, 2005). Esta conformação globular reduz a exposição de certos grupos de aminoácidos susceptíveis de estabelecerem ligações químicas (Ramírez-Suárez *et al.*, 2005). Isto faz com que esta proteína tenha um papel menos importante na formação de um gel.

A maioria das proteínas sarcoplasmáticas são enzimas, que são solúveis em água e participam no metabolismo celular, estando localizadas nos organelos celulares, tais como, o retículo endoplasmático, as mitocôndrias e os lisossomas (Huss, 1995). Para fins tecnológicos, a presença destas proteínas (no caso de polpas de pescado não lavadas) afecta geralmente os fenómenos de gelificação das proteínas miofibrilhares, pelo que muitas vezes são removidas por lavagem (caso da produção de *surimi*).

As proteínas do tecido conjuntivo, constituídas maioritariamente por colagénio, são quase totalmente insolúveis em água e em soluções salinas. Geralmente, as fibras de colagénio apresentam, nos diferentes tecidos conjuntivos, um padrão semelhante ao encontrado nos mamíferos. Contudo, o colagénio nos peixes é muito mais termolábil (45°C) do que nos mamíferos (60 – 65 °C). Este facto faz com que o músculo dos peixes tenha uma textura mais suave do que a carne de mamíferos (Belitz, 2009). Segundo Huss (1995), a variação da quantidade e tipo de colagénio também tem influência nas propriedades texturais do músculo do peixe.

1.5.3. Lípidos

Os lípidos desempenham diversas funções biológicas importantes nos organismos vivos, nomeadamente, no armazenamento e transporte de energia, na formação das membranas das células, na manutenção da estrutura e integridade, na síntese de prostaglandinas e no transporte de vitaminas lipossolúveis (Nunes *et al.*, 2011).

O teor lipídico existente nos peixes pode variar num grande intervalo (0,3 a 45%, w/w). Em contraste, os moluscos e crustáceos apresentam teores lipídicos entre 1 a 2% (Kolakowska *et al.*, 2003). No entanto, o teor de matéria gorda existente no pescado tende a variar não apenas de espécie para espécie, mas também com a época do ano, a maturidade e a disponibilidade de alimento (Belitz, 2009; Nunes *et al.*, 2011). Contrariamente ao que acontece com os animais terrestres, onde a maioria dos lípidos é geralmente depositada no tecido adiposo, os peixes têm lípidos no fígado, nos músculos, nos tecidos subcutâneos e na zona visceral (Nunes *et al.*, 2011).

De acordo com o teor em gordura, os peixes são geralmente classificados em três categorias. Por exemplo, o salmão do atlântico, a sardinha europeia, o arenque e a cavala têm mais de 10% de gordura, sendo por isso considerados peixes gordos. As espécies

consideradas magras, como é o caso da pescada, do bacalhau e da corvina, apresentam valores de gordura na ordem de 1%. Dentro das espécies semi-gordas encontra-se por exemplo a truta, o robalo e a dourada, que apresentam teores entre 5 – 10% de gordura (Nunes *et al.*, 2011).

Outros autores fazem classificações diferentes, como é o caso de Ackman (1994), que considera que os peixes podem ser divididos em quatro classes, de acordo com o seu teor em matéria gorda:

- Magros (< 2% gordura): bacalhau, corvina, pescada, crustáceos;
- Pouco gordos (2 – 4% gordura): linguado; pregado, solha;
- Semi-gordos (4 – 8% gordura): salmão selvagem;
- Muitos gordos (> 8% gordura): salmão de aquacultura, cavala e arenque.

Os lípidos presentes no músculo dos peixes são, maioritariamente, compostos por fosfolípidos e triacilgliceróis (TAG). Esteróis e pequenas quantidades de outros lípidos, tais como, glicolípidos e sulfolípidos também estão geralmente presentes (Kolakowska *et al.*, 2003). Os fosfolípidos fazem parte da estrutura das membranas das celulares, pelo que, também são chamados de lípidos estruturais. Os TAG assumem a função de reserva energética, daí serem muitas vezes denominados como gorduras de reserva (Huss, 1995; Kolakowska *et al.*, 2003). Nas espécies magras de peixes os fosfolípidos têm um contributo maior, para o teor lipídico total, representando cerca de 90%, com os TAG a contribuírem com cerca de 1 a 2% (Kolakowska *et al.*, 2003).

Os lípidos do pescado são compostos por ácidos gordos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e polinsaturados (PUFA) (Kolakowska *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2008; Nunes *et al.*, 2011). O perfil e a quantidade de ácidos gordos no pescado tende a variar consideravelmente de espécie para espécie. Os saturados mais comuns são o mirístico (14:0), palmítico (16:0) e esteárico (18:0), sendo que normalmente o palmítico é o mais abundante. Este ácido gordo é considerado um metabolito chave na síntese dos outros ácidos gordos, sendo praticamente constante ao longo do ciclo de vida dos peixes (Nunes *et al.*, 2003). De entre os monoinsaturados salientam-se o ácido oleico (18:1 ω 9). Os ácidos gordos polinsaturados pertencem a duas famílias – ómega 6 (ω 6) e ómega 3 (ω 3), sendo os ácidos gordos ómega 3 os mais abundantes no pescado (Nunes *et al.*, 2008). De entre os ácidos gordos polinsaturados da família ω 6 destacam-se os ácidos linoleico (18:2 ω 6) e o araquidónico (20:4 ω 6). Do conjunto dos ω 3 salientam-se o EPA (20:5 ω 3) e o DHA (22:6 ω 3), sendo este último, o mais abundante.

Em regra, as espécies mais gordas contêm mais cadeias longas ómega 3 PUFA do que as espécies mais magras; a quantidade de ácidos gordos saturados (SFA), em percentagem, é praticamente constante em quase todas as espécies. Na maioria das espécies, os PUFA são o grupo dominante, contudo existem algumas excepções como é caso da corvina e do peixe-espada preto, onde o conteúdo em MUFA é maior que o conteúdo em PUFA (Nunes *et al.*, 2011).

A maioria dos peixes de aquacultura têm uma dieta muito rica em lípidos de forma a maximizar as taxas de crescimento, o que leva a que a sua carne tenda a ter um maior teor lipídico que as espécies selvagens, muitas vezes o dobro (Dustan *et al.*, 1996; Nichols *et al.*, 1998). O teor de gordura e o perfil de ácidos gordos encontrados no pescado reflectem a quantidade e o tipo de lípidos utilizados nas rações (Silva & Chamul, 2000; Nunes *et al.*, 2011). Assim, os lípidos do peixe de aquacultura são usualmente mais ricos em ácidos gordos saturados e monoinsaturados e, em consequência, apresentam uma menor percentagem de ácidos gordos polinsaturados do que o pescado selvagem (Nunes *et al.*, 2008; Nunes *et al.*, 2003).

1.5.4. Colesterol

O colesterol é o principal esteroide presente nos produtos da pesca e da aquacultura, normalmente nos peixes, onde pode exceder 90% do total de esteróis. Na maioria dos produtos da pesca e da aquacultura os níveis de colesterol são relativamente reduzidos, situando-se entre os 20 – 85 mg/100g (Nunes *et al.*, 2008; Nunes *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2011). Durante muitos anos pensou-se que o marisco apresentava níveis elevados de colesterol, no entanto, actualmente é sabido que os métodos analíticos, anteriormente utilizados, determinavam não apenas o colesterol mas também outros esteróis (Nunes *et al.*, 2003).

1.5.5. Vitaminas e Sais Minerais

A quantidade de vitaminas e sais minerais existentes no pescado é específica de cada espécie e varia ao longo das estações. Em geral, o pescado é uma boa fonte de vitaminas do complexo B (B6 e B12) e, no caso das espécies mais gordas de peixes também se encontram níveis significativos das vitaminas lipossolúveis, A, D e E (Huss, 1995; Belitz, 2009; Nunes *et al.*, 2003; Nunes *et al.*, 2011). A vitamina E apresenta-se no pescado sobretudo como α -tocoferol que é o antioxidante natural mais eficiente nos seres vivos (Belitz, 2009; Nunes *et al.*, 2008).

Relativamente aos minerais, os produtos da pesca e da aquacultura fornecem uma grande variedade de compostos, situando-se o teor total de minerais, para a maioria das espécies de peixe, entre 0,8 e 2,0%. Em geral, considera-se que o pescado é uma excelente fonte de fósforo, potássio, iodo e selénio. Segundo Huss (1995), o pescado de água salgada apresenta níveis muito elevados de iodo. O cálcio, o ferro e o magnésio também são encontrados no pescado, contudo em quantidades mais reduzidas (Nunes *et al.*, 2003).

1.6. Corvina - legítima

Nome Científico da Espécie: *Argyrosomus regius* (Asso 1801).

Classificação Taxonómica:

Reino: Animalia; **Filo:** Chordata; **Classe:** Actinopterygii; **Ordem:** Perciformes; **Família:** Sciaenidae; **Género:** *Argyrosomus*; **Espécie:** *A. regius* (Cárdenas, 2010).



Figura 1.5 – Corvina - legítima (*Argyrosomus regius*).

Fonte: Anónimo (a)

A Corvina - legítima, *Argyrosomus regius* (Asso 1801), é um peixe teleósteo (grupo dos peixes ósseos) da família Sciaenidae, pode crescer até dois metros de comprimento e atingir mais de 50 kg de peso (Anónimo (a)). O tamanho máximo registado até hoje foi de 2,30 m e 103,0 kg de peso (Anónimo (b)). É um peixe carnívoro que se alimenta essencialmente de pequenos peixes e crustáceos (Anónimo (c)). Apresenta uma cabeça relativamente grande e o corpo alongado, a boca encontra-se em posição terminal e os olhos são pequenos. A coloração do corpo é prateada e a cavidade bucal tem uma coloração alaranjada (Cárdenas, 2010; FAOa). A cor da cavidade bucal é um parâmetro inequívoco da frescura da corvina, que pouco tempo após a captura passa de alaranjada para acastanhada e mais tarde para cinzenta (Teubner, 2007). O crescimento é alcançado principalmente durante o Verão, sendo a ingestão de alimento substancialmente reduzida quando a temperatura da água de mar desce abaixo dos 13 - 15 °C (Quéro, 1989; FAOa).

As condições mais favoráveis para o crescimento e desenvolvimento da corvina são entre os 17 - 21 °C, no entanto podem-se adaptar a temperaturas entre os 14 - 23 °C (Cárdenas, 2010).

A principal área de distribuição geográfica da corvina (Figura 1.6) estende-se ao longo do Atlântico Nordeste e Centro - Este, entre o Senegal e o Norte de França. Ocorre igualmente no Mar Mediterrâneo e Mar Negro (FAOa). A corvina vive em águas costeiras e de plataforma, junto ao fundo ou perto da superfície, num intervalo de profundidade entre 15 - 200 m (Whitehead, 1986). É um peixe bastante apreciado e que apresenta uma carne muito saborosa (Cárdenas, 2010; Anónimo (c)).

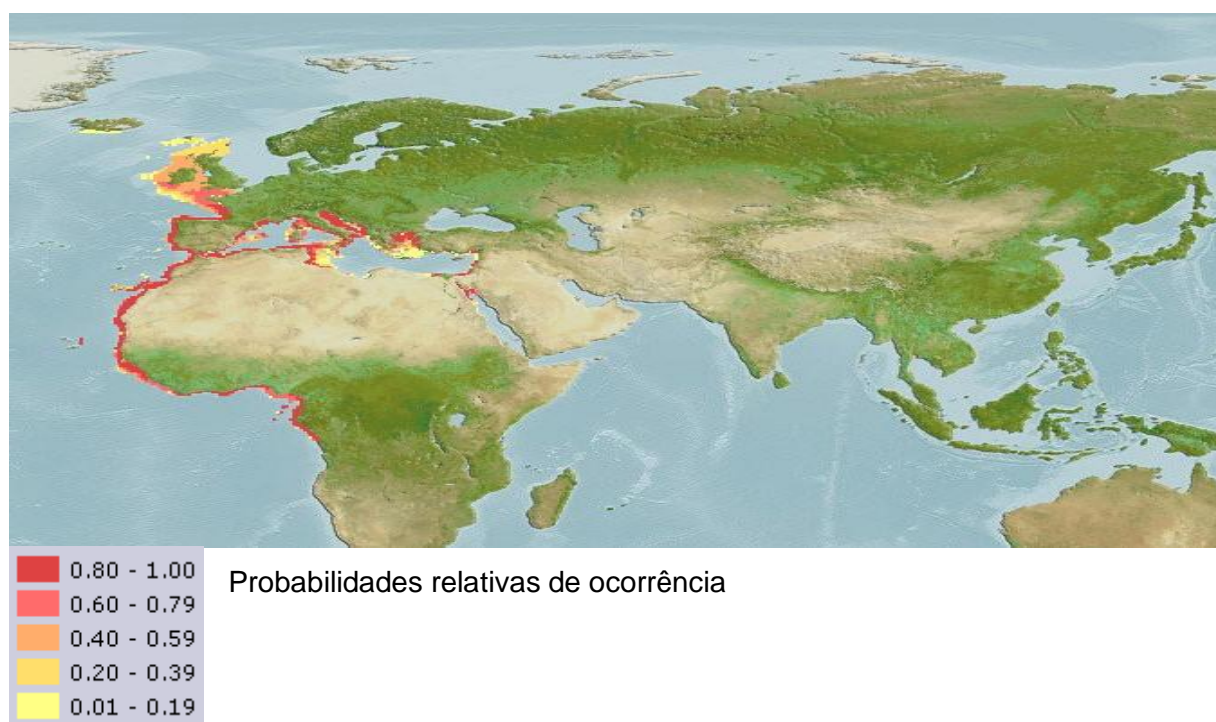


Figura 1.6 – Distribuição geográfica da Corvina - legítima (*Argyrosomus regius*) (Asso 1801).

Fonte: Anónimo (d)

A nível global, a quantidade capturada de corvina está entre as 5 000 e as 10 000 toneladas por ano. Na Europa os valores capturados são baixos, estando entre as poucas centenas de toneladas até às 1 500 toneladas, em diferentes países. Tendo em conta que é um peixe bastante apreciado nos países do sul da Europa (Portugal, Espanha, França e Itália), existe um défice, que é suplementado com importações provenientes de Marrocos (Monfort, 2010).

1.6.1. Caracterização Bioquímica da Corvina-legítima (*Argyrosomus regius*)

Nas Tabelas 1.2 e 1.3 é apresentada a caracterização bioquímica da Corvina - legítima.

Tabela 1.2 - Perfil de ácidos gordos, teor em minerais e composição química da Corvina - legítima (*Argyrosomus Regius*).

Ácidos Gordos (mg/ 100g) - Cru		Minerais (mg/ 100g) - Cru		Composição química (g/ 100g) - Cru	
16:0	234,7	Ca (Cálcio)	13,0	Humidade	76,7
Σ Saturados	342,3	P (Fósforo)	233	Gordura	1,4
18:1ω9	144,2	Mg (Magnésio)	31	Proteína	20,4
Σ Monoinsaturados	465,0	Fe (Ferro)	0,3	Cinza	1,2
18:2ω6	8,0	Na (Sódio)	56	Aspectos positivos: Este peixe é uma boa fonte de potássio.	
EPA	5,7	K (Potássio)	430		
DHA	147,0	Mn (Manganês)	<0,02		
Σ Polinsaturados	233,8	Cu (Cobre)	<0,03		
ω3	216,1	Zn (Zinco)	0,5		
ω6	17,7				

Fonte: Bandarra *et al.*, (2004)

Tabela 1.3 – Teor total em aminoácidos e vitaminas da Corvina - legítima (*Argyrosomus regius*).

Aminoácidos Totais (g/ 100g) - Cru				Vitaminas (/ 100g) - Cru	
Ácido aspártico (<i>Asp</i>)	1,8	Isoleucina (<i>Ile</i>)	0,8	A (µg)	1,3
Treonina (<i>Thr</i>)	0,8	Leucina (<i>Leu</i>)	1,5	E (mg)	0,5
Serina (<i>Ser</i>)	0,7	Tirosina (<i>Tyr</i>)	0,6	D (µg)	16,0
Glutamina (<i>Glu</i>)	2,7	Fenilalanina (<i>Phe</i>)	0,7	B1 (mg)	0,1
Prolina (<i>Pro</i>)	0,6	Histidina (<i>His</i>)	0,4	B2 (mg)	0,1
Glicina (<i>Gly</i>)	0,9	Lisina (<i>Lis</i>)	1,6	B6 (mg)	0,3
Alanina (<i>Ala</i>)	1,1	Arginina (<i>Arg</i>)	1,0	B12 (µg)	n.a
Cistina + Cisteína (<i>Cyss</i>)	n.a	Triptofano (<i>Trp</i>)	n.a	Folatos (µg)	12,0
Valina (<i>Val</i>)	0,9				
Metionina (<i>Met</i>)	0,5				

Fonte: Bandarra *et al.*, (2004)

1.6.2. Produção de Corvina em Sistemas de Aquacultura

A produção de corvina em sistemas de aquacultura teve início, na Europa, no final dos anos 90, após um acordo entre produtores Italianos e Franceses, como a primeira produção comercial a realizar-se em França em 1997 (Quémener, 2002; Monfort, 2010). Espanha entrou no negócio em 2004, seguida pela Grécia e pela Turquia em 2007. De acordo com dados de 2008, a produção total de corvina de aquacultura nas águas do Mar Mediterrâneo situou-se entre as 2 500 e as 3 000 toneladas. Os valores de produção esperados para o ano de 2010 rondavam as 10 000 toneladas, uma vez que foram vendidos aos produtores europeus, no ano de 2008, cerca de 8 a 10 milhões de peixes juvenis (Monfort, 2010).

De acordo com o relatório APROMAR (2009), a corvina está a caminho de se tornar na quarta espécie de aquacultura mais importante, produzida em Espanha, atrás da dourada, do robalo e do pregado. Actualmente, Espanha, França, Itália, Grécia, Turquia e Egito são os principais países produtores de corvina de aquacultura na região do Mar Mediterrâneo (Tabela 1.4).

Tabela 1.4 – Produção de Corvina em sistemas de aquacultura entre 1997 e 2008 (Toneladas).

País/Ano	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
França	30	30	30	33	35	165	100	147	267	282	282	300
Itália						131	-	696	186	172	192	300
Espanha							3	16	347	489	251	1374
Portugal									47	47	25	15
Grécia												240
Turquia												*512
Malta										28	12	12
Egipto												2031

Fonte: FAO (2010b); * Deniz (2009).

A corvina é uma espécie de peixe que se adapta muito bem em cativeiro, pois apresenta taxas elevadas de crescimento (Quéro & Vayne, 1997; Quéméner, 2002; Sturrock, H *et al.*, 2008) e tem a capacidade de tolerar uma ampla gama de temperaturas e níveis de salinidade. Além disso, apresenta ainda outros atributos biológicos, tais como, elevadas taxas de fertilidade, boa adaptação a diferentes ambientes e não apresenta patologias significativas (Hernández *et al.*, 2009; Parisi *et al.*, 2010). De acordo com Monfort (2010), a corvina é uma das espécies com melhor potencial para produzir na Europa em larga escala devido às suas condições favoráveis de produção, passando da posição actual de uma espécie de nicho (pequenos volumes a preços relativamente elevados), com uma produção limitada, directamente para segmentos de mercado seleccionados.

Do ponto de vista do mercado a corvina apresenta bons valores intrínsecos: tem uma forma atractiva, bom rendimento de processamento, superior a 44% (Cárdenas, 2010), bons valores nutricionais, baixo teor em gordura (Quéméner, 2002; Poli *et al.*, 2003), elevados teor proteicos, excelente sabor e textura firme. Mesmo quando criada em condições intensivas de produção, através de dietas com elevados teores de gordura, conseguem-se obter peixes com elevada qualidade (Sturrock, H *et al.*, 2008). No entanto, é uma espécie de peixe muito pouco conhecida pelos consumidores. Num mercado global com uma escassez de peixe existe espaço para o fornecimento de corvina (Monfort, 2010). Além disso, esta espécie pode ser transformada em porções, tais como, filetes, lombos e mesmo produtos de

pescado reestruturados, de modo a fornecer um segmento crescente de mercado de produtos preparados, desenvolvidos a partir de peixe magro.

A corvina de aquacultura é maioritariamente vendida inteira e em fresco, com um tamanho comercial médio de 2 kg (Figura 1.7). Peixes com peso entre os 400 – 700 g não são considerados adequados para comercialização porque apresentam uma cabeça muito grande, grandes espinhas, têm pouca carne e não são muito saborosos, o que faz com que não sejam atractivos para o mercado (Monfort, 2010).

Apenas pequenos volumes são processados para serem congelados. Os filetes fumados são referidos como um produto possível e com potencial, de acordo com os produtores de corvina, no entanto esta é uma área que ainda não está explorada. A produção de *sushi* a partir de corvina também parece ser uma possível saída de mercado, uma vez que este é um peixe magro e apresenta boas qualidades para ser comido cru.



Figura 1.7 – Corvina de aquacultura com tamanho comercial de mercado.

Fonte: Monfort (2010)

1.7. Produtos de Pescado Reestruturados

A classe dos produtos de pescado reestruturados abrange uma grande variedade de produtos, desde os douradinhos (pequenos lombos de peixe cobertos com pão ralado, congelados e prontos a fritar), a uma nova geração de produtos classificados como análogos ou substitutos dos tradicionais produtos da pesca, como é o caso das delícias do mar (preparadas a partir de *surimi*), ou mesmo produtos de valor acrescentado (Borderías *et al.*, 2005). Estes produtos não se tornaram populares apenas no Japão e em outros países asiáticos, mas também têm ganho mercado na América do Norte e, mais recentemente na Europa. Uma das principais razões do desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados está relacionada com a falta diversidade e oferta limitada de produtos da pesca de qualidade (Borderías *et al.*, 2005). O aproveitamento de fontes subutilizadas de pescado, tais como, desperdícios do processamento ou mesmo espécies que tradicionalmente não são comercializadas, constitui uma preciosa fonte de proteína animal.

Contudo, estas fontes de proteína não são muitas vezes utilizadas pelo facto de não serem sensorialmente atractivas e se degradarem com elevada facilidade. O desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados constitui uma saída para estas matérias-primas subvalorizadas.

No entanto, mais recentemente, o desenvolvimento de produtos de pescado transformados e reestruturados já não se faz só com recurso a matérias-primas subvalorizadas, resultantes do processamento do pescado, mas também, a partir de peixe inteiro. O mercado de peixe inteiro de várias espécies de aquacultura, como é o caso do robalo, tem vindo a mostrar sinais de saturação, pelo menos, nos países do sul da Europa (Cardoso *et al.*, 2010). Para contrariar esta tendência, previsivelmente extensível a outras espécies, torna-se essencial desenvolver novos produtos, de forma a adequar a oferta à procura do mercado, tanto em termos de qualidade como de forma (conveniência), preço e atributos (nutricionais, benéficos para a saúde e de produção sustentável). A única forma de obter preços comercialmente viáveis é fornecer o mercado com aquilo que ele necessita, em termos de quantidade, forma e qualidade.

Uma das principais vantagens dos produtos de pescado reestruturados é que a composição do produto final pode ser reformulada (Borderías *et al.*, 2005). Alguns constituintes podem ser eliminados (como é o caso do *surimi*, onde a lavagem da polpa elimina enzimas) e novos componentes podem ser adicionados. Estes componentes podem desempenhar diferentes funções, tais como, melhorar as propriedades sensoriais (textura, dureza, suculência, cor, capacidade de retenção de água etc.), enriquecer o conteúdo nutricional, funcionar como agentes nutracêuticos e ainda alargar o prazo de validade. Em alguns produtos é possível diferenciar estes componentes como ingredientes ou como aditivos. Os ingredientes são substâncias, cuja incorporação é indispensável para obter um determinado produto, como é caso do pão ralado nos douradinhos. Por outro, lado os aditivos são incorporados com o único propósito de modificar as propriedades do produto sem modificar a sua identidade (por exemplo a incorporação de fibras dietéticas).

É possível considerar diferentes categorias de produtos de pescado reestruturados em função do tipo de matéria-prima utilizada durante o processo de preparação. Existem produtos preparados a partir de polpas de pescado não lavadas, outros a partir de *surimi* e ainda outros a partir de isolados de proteína de pescado ou proteína recuperada.

Neste trabalho, os produtos de pescado reestruturados desenvolvidos, são produtos de elevada qualidade que foram elaborados a partir de polpas de corvina não lavadas, obtidas após filetagem do peixe, pelo que será dado um maior enfoque a este tipo matéria-prima.

As polpas de pescado podem ser definidas como o músculo de pescado picado, sem espinhas, sem peles e sem sofrer lavagem. Estas polpas contêm todas as proteínas e

biomoléculas existentes no músculo do pescado. Isto faz com que as polpas de pescado tenham menos estabilidade que o músculo do pescado inteiro. Durante o processo mecânico de obtenção das polpas de pescado (Figura 1.8) há rompimento das membranas dos tecidos que ficam expostas ao ar, o que acelera os processos oxidativos (Venugopal & Shahidi, 1995). Além disso, as contagens microbianas tendem a ser maiores nas polpas do que no músculo inteiro, uma vez que a superfície de contacto é superior. Como resultado do baixo nível de processamento (sem etapas de lavagem), as polpas de pescado apresentam vantagens nutricionais (presença de vitaminas lipossolúveis, minerais e lípidos) assim como vantagens funcionais, quando comparado com outras matérias-primas (Lanier, 1994; Magnúsdóttir, 1995). No entanto, a transformação das polpas de pescado em produtos finais, com propriedades funcionais, requer a adição de inibidores de enzimas ou um rápido tratamento térmico, de forma a minimizar a degradação resultante da actividade enzimática.

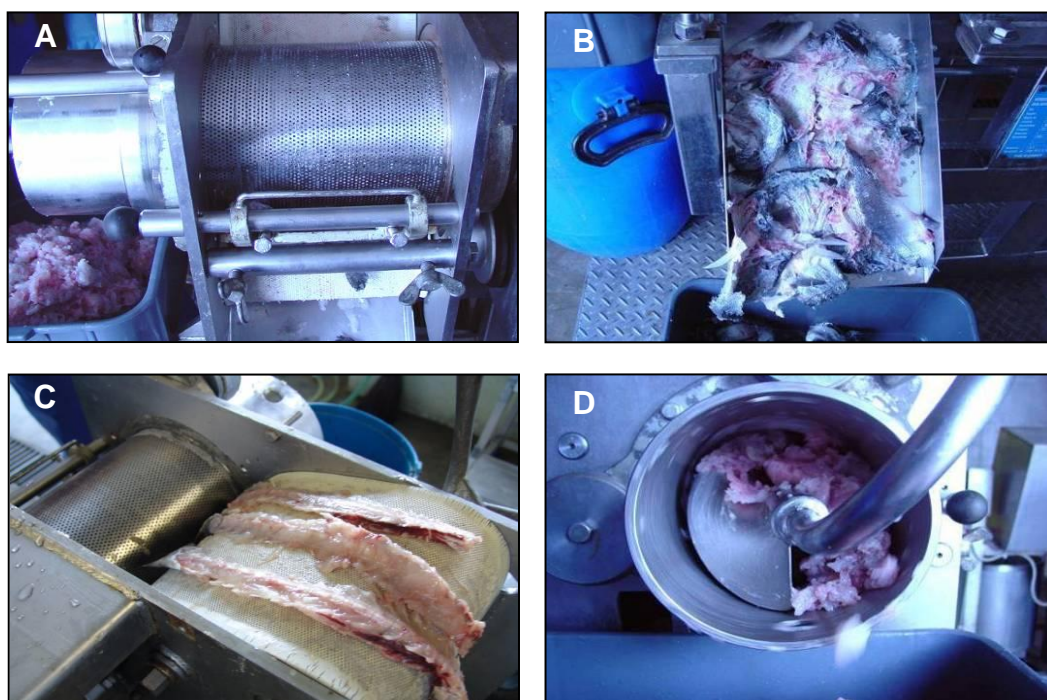


Figura 1.8 – Baader – separador mecânico para obtenção de polpas de pescado.
A – Visão geral. **B** – Material descartado (espinhas e peles). **C** – Zona de alimentação. **D** – Tambor perfurado com polpa de peixe no interior.

Fonte: IPIMAR (2011)

No desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados a adição de sal é fundamental para a extracção e solubilização das proteínas miofibrilhares do músculo (Kuraishi *et al.*, 1997). Este processo conduz aos fenómenos de gelificação, que são a base para a elaboração de grande parte dos produtos de pescado reestruturados a partir de polpas de pescado, sendo o gel geralmente induzido por tratamento térmico (Borderías *et al.*, 1997).

1.8. Fibras Dietéticas como Aditivos Duplamente Funcionais

Os produtos da pesca têm um elevado valor nutricional e apresentam propriedades funcionais. Contudo, estes produtos não contêm fibra. A fibra é um componente essencial da dieta, responsável por desempenhar diversas funções benéficas para a saúde. Ao mesmo tempo, as fibras dietéticas constituem também uma verdadeira ferramenta tecnológica no desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados, apresentando propriedades funcionais, tais como, capacidade de retenção de água, melhoria da textura, capacidade de gelificação, propriedades de ligação da gordura, aumento da viscosidade (Borderías *et al.*, 2005), actividade antioxidante, etc.

Ao contrário do que acontece com outros nutrientes, a fibra dietética não é atacada pelas enzimas do estômago e do intestino, o que faz com que chegue ao cólon sem sofrer degradação. O termo fibra dietética inclui polissacáridos, oligossacáridos, lenhina e outras substâncias associadas. Actualmente, o conceito de fibra dietética é mais abrangente, não se referindo apenas às partes não digeríveis de certos vegetais, mas também, a compostos de origem animal, como o quitosano (Borderías *et al.*, 2005), ou mesmo de algas, como é o caso dos carragenatos.

Ao nível dos benefícios para a saúde, estudos epidemiológicos já demonstram que existe uma correlação entre as dietas com elevados teores de fibra dietética e uma menor incidência de doenças cardiovasculares (Ludwig *et al.*, 1999) e do cancro do cólon (Bobek *et al.*, 2000; Honda *et al.*, 1999). A modificação da resposta glicémica é, também, apontada como um efeito benéfico associado à ingestão de fibra dietética (Wolever & Jenkins, 1993). A diminuição da absorção lipídica, a nível intestinal, e consequentemente a diminuição dos níveis de colesterol, pode ser conseguida com uma dieta rica em fibras (Mekki *et al.*, 1997; Gallaher & Schneeman, 2003).

A adição de fibras dietéticas a produtos de pescado reestruturados é de grande interesse, não apenas pelo papel funcional que estas têm a nível tecnológico, mas também, pelo facto de permitirem desenvolver produtos alimentares funcionais com diversos benefícios para a saúde.

1.9. Processo de Gelificação e Interações Químicas

Nos produtos de pescado reestruturados, especialmente aqueles que contêm elevadas concentrações de proteínas miofibrilares, os processos bioquímicos de gelificação desempenham um papel essencial nas propriedades dos produtos.

Em primeiro lugar, interessa perceber bem em que consiste um produto alimentar gelificado. Trata-se de um alimento com propriedades viscoelásticas, isto é, combina propriedades viscosas e elásticas se sujeito a deformação (Meyers & Chawla, 1998). A maioria dos hidratos de carbono gelificantes e a gelatina, formam hidrogéis (a água está contida numa matriz polimérica), quando submetidos a temperaturas baixas, contudo também derretem com o aumento da temperatura (são por isso chamados de géis termo-reversíveis) (Lanier *et al.*, 2005). Por outro lado, as proteínas miofibrilares do peixes, assim como as proteínas do músculo de outras espécies animais, do ovo, e do leite, formam géis termo-irreversíveis quando submetidas ao calor, que não derretem quando a temperatura varia (Lanier *et al.*, 2005; Huss, 1995). Estas proteínas do peixe têm grandes potencialidades e permitem desenvolver produtos com elevadas qualidades texturais, em particular géis com elevada força de gel e deformabilidade, um caso particular para a maioria dos produtos com elevados teores de proteína.

As proteínas miofibrilares do peixe desempenham o papel principal nos fenómenos de gelificação e são o maior grupo de proteínas no músculo do peixe. Estas proteínas têm superfícies altamente reactivas quando a proteína é desdobrada. Durante o aquecimento de polpas de pescado (lavadas ou não), as proteínas desdobram-se, expondo as suas superfícies reactivas para as moléculas proteicas vizinhas, que então interagem para formar ligações intermoleculares. Quando ocorrem ligações suficientes, forma-se uma rede tridimensional, resultando num gel (Lanier *et al.*, 2005). Entre proteínas formam-se dois tipos principais de ligações, covalentes e não-covalentes. As últimas dividem-se em três tipos principais, pontes de hidrogénio, ligações iónicas e interações hidrofóbicas. Todas as ligações são importantes no processo de gelificação: as pontes de hidrogénio depois da cozedura (durante o arrefecimento), o rompimento das ligações iónicas é necessário para a gelificação e as ligações hidrofóbicas e covalentes parecem ser fundamentais para a formação, a elevadas temperaturas, de um gel termo-irreversível (Gilleland *et al.*, 1997). A adição de sal às polpas de pescado leva à ruptura das ligações iónicas, ajudando a dispersão das proteínas e desenvolvimento de uma estrutura elástica (Niwa, 1992). Os iões do sal (Na^+ e Cl^-) ligam-se selectivamente aos grupos de carga oposta expostos na superfície das proteínas.

Contrariamente com o que acontece com os tipos de ligações proteicas discutidas anteriormente, as ligações covalentes, uma vez formadas, são em grande parte insensíveis

à temperatura. Por esta razão, a formação destas ligações, além das interações hidrofóbicas, é considerado o mecanismo primário para formação de um gel termo-irreversível (Gilleland *et al.*, 1997). Dentro das ligações covalentes, existem dois tipos de ligações que merecem especial atenção: as ligações dissulfureto (S-S) e as ligações ϵ -amino-(γ -glutamil)-lisina.

As ligações dissulfureto têm um papel importante na gelificação proteica como resultado do processo de cozedura (Lanier *et al.*, 2005). Um requisito importante, para que a gelificação proteica seja bem sucedida, é a conversão das ligações S-S intramoleculares (dentro de uma proteína) em ligações S-S intermoleculares (entre proteínas), através do intercâmbio dos grupos dissulfureto de cada proteína, permitindo assim o estabelecimento de ligações entre proteínas (*cross-linking*).

Por outro lado, as ligações ϵ -amino-(γ -glutamil)-lisina (entre os resíduos de glutamina e lisina das cadeias pesadas da miosina) são catalisadas por uma enzima, TGase (transglutaminase) (Kumazawa *et al.*, 1993; Ramírez-Suárez *et al.*, 2001), que pertence ao grupo das proteínas sarcoplasmáticas presentes nas polpas de pescado e é dependente do cálcio (Ca^{2+}) (Saeki, 1996). Estas ligações têm, também, um grande contributo para o *cross-linking* das proteínas, permitindo criar uma rede mais densa e mais coesa, entre as proteínas dos produtos gelificados.

A TGase, enzima endógena presente no peixe, tem algumas desvantagens que limitam o seu contributo no *cross-linking* das proteínas e por isso o efeito favorável na gelificação. É uma enzima solúvel em água, pelo que pode ser removida nos processos de lavagem das polpas de pescado e para estar activa os iões cálcio (Ca^{2+}) têm de estar presentes, em quantidade suficiente (Lee & Park, 1998; Saeki, 1996). Outro factor é que a quantidade de TGase presente nos peixes é bastante variável de espécie para espécie. Dados esses inconvenientes, a utilização de TGase de origem microbiana (MTGase), como aditivo, é uma solução de baixo custo e bastante vantajosa, funcionando como uma importante ferramenta na melhoria da capacidade de gelificação dos produtos de pescado reestruturados (Ando *et al.*, 1989).

1.10. Processos Térmicos - *Setting* e Cozedura

No processo de preparação de produtos de pescado reestruturados, os processos térmicos têm um papel fundamental no desenvolvimento de fenómenos que levam à obtenção do produto final. Após a mistura das polpas de pescado com sal e outros ingredientes, o produto deve ser submetido a uma primeira fase de aquecimento, a baixas temperaturas, denominada por *setting*. O *setting* promove o *cross-linking* das proteínas

(formação de ligações covalentes ϵ -amino-(γ -glutamil)-lisina catalisadas pela TGase), resultando na formação de polímeros de miosina (Esturk *et al.*, 2004). Como resultado deste processo forma-se um gel pouco duro e bastante deformável. Para a maioria das espécies de peixe o *setting* é realizado num intervalo de temperatura entre os $0 < T < 40$ °C (Moreno *et al.*, 2009). No entanto, para algumas espécies de águas temperadas, um *setting* a uma temperatura mais elevada ($25 < T < 40$ °C), também permite bons resultados.

Com o objectivo de formar um gel com uma maior rigidez e firmeza é necessário que, após o *setting*, o produto seja submetido a um segundo tratamento térmico, a cozedura. Geralmente, com uma cozedura a uma temperatura de 90 °C, o gel pouco duro e deformável que se formou durante o *setting*, vai ficar com uma rigidez cada vez maior à medida que os fenómenos de agregação das proteínas ocorrem (Roussel & Cheftel, 1990; Sano *et al.*, 1990), até se formar a estrutura final do gel. Durante o aquecimento a baixas temperaturas (*setting*), é a estrutura linear da miosina que desempenha o principal papel nas interações de *cross-linking*, no aquecimento a elevadas temperaturas (cozedura) é a estrutura globular da miosina que assume uma maior importância (Taguchi *et al.*, 1987; Sano *et al.*, 1990).

Um aspecto bastante importante, e que se deve garantir durante o processo de cozedura, é que a temperatura final seja alcançada rapidamente. Um aquecimento lento, que permaneça durante muito tempo a temperaturas entre os 50 e 70° C pode ser problemático, levando à perda de qualidade dos produtos (An *et al.*, 1996). Isto porque, neste intervalo de temperaturas podem ser activadas proteases endógenas do músculo do peixe, nomeadamente, as catepsinas (An *et al.*, 1996; Ramos-Martínez *et al.*, 1999), que levam à desintegração da estrutura proteica (fenómeno conhecido por *modori* pelos Japoneses).

2. Objectivos

2.1. Objectivo Geral

O objectivo geral deste trabalho consiste no desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados, tipo salsicha, a partir de polpas de corvina, obtidas mecanicamente após filetagem do peixe, combinadas com aditivos funcionais.

2.2. Objectivos Específicos

2.2.1. Desenvolvimento de Produtos Gelificados, com Fibra Dietética e Baixos Teores de Sal, a partir de Corvina (*Argyrosomus regius*) de Aquacultura - (Capítulo 3.)

Desenvolver produtos gelificados, a partir de polpa de corvina, com diferentes teores de sal (1,0 – 2,5% w/w), MTGase (0 – 0,5% w/w) e adição de fibras dietéticas – fibra de ervilha (Swe), 4,0% (w/w) e fibras de Carragenato (Carr) + Konjac (Kjc), 2,0% + 2,0% (w/w). Determinar a composição química e o pH dos produtos gelificados de corvina; avaliar os parâmetros texturais, assim como, a capacidade de retenção de água e a cor.

2.2.2. Alterações da Qualidade durante o Armazenamento em Refrigeração, de Salsichas de Corvina (*Argyrosomus regius*) com Fibra Dietética Antioxidante de Uva – (Capítulo 4.)

Desenvolver salsichas de corvina com adição de 3,0% (w/w) de fibra dietética antioxidante de uva (FDAU). Avaliar a estabilidade das salsichas de corvina com FDAU, em refrigeração, ao longo de 98 dias. Realizar a caracterização da composição química, do perfil de ácidos gordos, da composição em aminoácidos, dos exsudados, da textura, do perfil reológico dinâmico, das contagens microbiológicas, da cor, do pH, da actividade de eliminação de radicais (RSA), do poder redutor (PR), das substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e da análise sensorial.

3. Desenvolvimento de Produtos Gelificados, com Fibra Dietética e Baixos Teores de Sal, a partir de Corvina (*Argyrosomus regius*) de Aquacultura

3.1. Introdução

A corvina (*Argyrosomus regius*) é uma espécie que tem vindo a ganhar cada vez mais importância, na aquacultura do mediterrâneo. As previsões de crescimento apontam para que esta espécie passe da posição actual de nicho, com uma produção limitada, e se torne numa espécie massificada de mercado, tal como aconteceu com o robalo (*Dicentrarchus labrax*) e com a dourada (*Sparus aurata*). Com o objectivo de contrariar a tendência futura, que já se faz sentir no caso do robalo, de uma queda no consumo de peixe inteiro, verificada principalmente nos mercados do sul da Europa, é importante delinear estratégias de diversificação de produtos, para segmentos de mercado seleccionados.

A corvina tem excelentes valores nutricionais e com uma dimensão comercial (superior a 2 kg) apresenta um grande potencial para ser transformada em filetes ou lombos. Contudo, os peixes mais pequenos (400 - 700 g), não são atractivos, uma vez que, apresentam uma cabeça muito grande, têm grandes espinhas, pouca carne e esta é pouco saborosa (Monfort, 2010). De forma a reforçar a posição de mercado destes peixes mais pequenos, que não são adequados para comercialização, podem ser desenvolvidos produtos reestruturados de corvina com elevada qualidade.

Muitas vezes por motivos relacionados com questões de saúde ou mesmo com o objectivo de praticar uma alimentação mais saudável, os consumidores preferem produtos cada vez mais benéficos para a saúde. Estas têm sido as principais razões que têm levado ao desenvolvimento de novos produtos alimentares que combinam ingredientes funcionais. Além do mais, combinar polpas de pescado com novos ingredientes é algo que já foi testado, com o objectivo de criar produtos funcionais e alternativos (Borderías *et al.*, 2005).

O desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados, a partir de polpas de pescado, depende em grande parte da capacidade de gelificação dessas polpas. Contudo, a utilização de polpas de corvina não lavadas, na preparação de produtos gelificados termicamente induzidos, é algo que nunca foi testado antes.

Como já foi explicado anteriormente, o sal é fundamental para o desenvolvimento da grande maioria dos produtos de pescado reestruturados. Permite a extracção das proteínas miofibrilhares que, após os processos térmicos, formam uma estrutura tridimensional (Manley *et al.*, 2005). Já foi demonstrado (Uresti *et al.*, 2004), que para se prepararem produtos gelificados é necessária uma adição de 2,0 a 3,0% (w/w) de sal, às polpas de pescado. Com estes teores de sal é possível obter produtos gelificados com características texturais desejáveis, contudo, são valores elevados. Isto constitui um problema, uma vez

que o consumo de produtos, com elevados teores de sal, não é benéfico para a saúde e os consumidores actuais são cada vez mais exigentes na escolha de alimentos saudáveis. Não é viável obter produtos de pescado reestruturados eliminando completamente o sal (Uresti *et al.*, 2004), no entanto, é possível reduzir os níveis de sal e utilizar aditivos, tais como, a transglutaminase microbiana (MTGase) (Téllez-Luis *et al.*, 2002). A MTGase permite evitar as perdas de qualidade nos produtos (principalmente textura e capacidade de retenção de água - CRA), associadas aos baixos teores de sal (Ramírez *et al.*, 2007). Esta enzima, bastante utilizada pela indústria alimentar, constitui uma solução de baixo custo e bastante vantajosa, funcionando como uma importante ferramenta na melhoria da capacidade de gelificação (promove a ligação entre proteínas – *cross-linking*) dos produtos de pescado reestruturados (Ando *et al.*, 1989; Téllez-Luis *et al.*, 2002). Já foi demonstrado, utilizando polpas de robalo (Cardoso *et al.*, 2010), que é possível obter produtos gelificados, com níveis de sal reduzidos, utilizando MTGase (0,5% (w/w)) e/ou fibra dietética (FD).

A FD é um aditivo alimentar bastante promissor, combinando propriedades funcionais e efeitos benéficos para a saúde. No entanto, a sua aplicação em produtos da pesca é algo bastante recente (Borderías *et al.*, 2005). Existem referências relativas à utilização fibras, obtidas a partir de algas (Ortiz & Aguilera, 2004) ou sementes (Montero *et al.*, 2000), aplicadas em produtos da pesca. A utilização de fibras dietéticas tem um efeito benéfico na capacidade de retenção de água, na ligação da gordura, na viscosidade e na formação de um gel (Borderías *et al.*, 2005).

Uma FD considerada como um aditivo bastante promissor é a fibra de ervilha (Swelite®). Esta fibra é adequada para aplicar em diversos produtos, tais como, carnes vermelhas, carne de aves, produtos da pesca, produtos vegetarianos e ainda em diversos molhos (Anónimo (f); Anónimo (g)). É uma fibra obtida por processos naturais, a partir de ervilhas amarelas. Na sua constituição apresenta, 2/3 de celulose, 1/3 de substâncias pécicas (Anderson & Berry, 2001) e amido. Tem como características melhorar a CRA dos produtos, tendo por isso, um efeito significativo na melhoria da textura. A gelatinização dos grãos de amido presentes nesta fibra reforça ainda mais as propriedades de ligação da água. Já foi demonstrado que a utilização de quantidades reduzidas desta fibra ($\leq 4\%$, (w/w)) pode alterar a textura de produtos desenvolvidos com polpas de pescada (*Merluccius capensis*), favorecendo uma maior força do gel e dureza (Cardoso *et al.*, 2008a).

Um outro aditivo, que tem ganho alguma importância, na aplicação em produtos de pescado (Park, 1996; Xiong *et al.*, 2009; Cardoso *et al.*, 2011a,b), é a farinha de konjac, obtida a partir do tubérculo moído de *Amorphophallus konjac* (Park, 1996). É solúvel em água e apresenta na sua constituição glucomanano. A farinha de konjac contém grupos acetil que inibem a formação de uma estrutura gelificada. Contudo, quando em condições

alcalinas, os grupos acetil libertam-se dando origem a um gel forte e termo-irreversível (Park, 2005a). Outros agentes gelificantes, utilizados pela indústria do *surimi*, são os carragenatos. Os carragenatos são polissacáridos obtidos a partir de algas vermelhas e funcionam como bons estabilizantes e texturizantes (Park, 2005a). Existem três tipos de carragenatos que são fabricados comercialmente: (1) – kappa-carragenatos, extraídos de *Euchema cottonii*; (2) – iota-carragenatos, extraídos de *Euchema spinosum* e (3) – lambda-carragenatos, extraídos de *Gigartina acicularis* (Park, 2005a). Já foi demonstrado que a interacção sinérgica entre o konjac e outros hidrocolóides, tal como o carragenato, possibilita a produção de um gel (Fernández-Martín *et al.*, 2009).

O principal objectivo deste trabalho experimental foi, estudar o efeito de combinações funcionais inovadoras entre polpa de corvina e fibras dietéticas, em produtos gelificados contendo baixos teores de sal.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Material

Na última semana de Janeiro do corrente ano, foi capturada corvina de aquacultura (*Argyrosomus regius*), directamente dos tanques pertencentes às instalações da estação piloto de aquacultura L – IPIMAR, localizadas em Olhão. O abate dos peixes foi feito por imersão em tanques contendo uma mistura de água e gelo, numa proporção 1:1. O peso de cada peixe variou entre 600 – 700 g. Posteriormente, os peixe foram imediatamente transportados a uma temperatura de $2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para o laboratório de Lisboa (IPIMAR), onde ficaram a baixas temperaturas ($< 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) até ao dia seguinte, durante o qual foram eviscerados e filetados. Os filetes obtidos foram imediatamente utilizados como matéria-prima.

A transglutaminase microbiana, TG-K (MTGase) ACTIVA® GS, foi fornecida por Ajinomoto (Tóquio, Japão), apresentando uma actividade de 100 U.g^{-1} .

Foram utilizadas três fibras dietéticas neste estudo: FD de ervilha - Swelite® (Swe) fornecida por Cosucra, S.A. (Warcoing, Bélgica), carragenato - CEAMGEL 1830 (Carr) fornecida por Ceamsa (Porriño, Espanha) e farinha de konjac - Nutricol® GP 312 (Kjc) fornecida por FMC Biopolymer (Philadelphia, USA). A fibra de ervilha (Swe) contém 48% (w/w) de FD (constituída por 2/3 de celulose insolúvel e 1/3 de pectina solúvel), 36% (w/w) de amido, 9% (w/w) de outros hidratos de carbono e um máximo de 7% (w/w) de proteína. Trata-se de um pó branco cujos grãos tem uma dimensão inferior a $400\text{ }\mu\text{m}$ (Anderson & Berry, 2001; folha do produto Swelite®, 2005). O Carr é constituído por uma mistura de iota e kappa carragenatos (cada um aproximadamente 50%) de algas vermelhas, contendo ainda,

adicionalmente, cloreto de potássio e dextrose. É um pó amarelo e apresenta grãos de dimensão inferior a 250 µm (folha do produto *CEAMGEL 1830*[®], 2006). A farinha de konjac (Kjc) apresenta igualmente grãos inferiores a 250 µm (folha do produto - *Nutricol*[®] GP 312, 2008). Os reagentes químicos utilizados foram de grau analítico fornecidos pela Merck (Darmstadt, Alemanha).

3.2.2. Desenho Experimental

Para a preparação dos produtos gelificados foi utilizada polpa de corvina em combinação com outros ingredientes e aditivos. Foram preparadas doze diferentes formulações de produtos (cada Código da Amostra – Tabela 3.1 - corresponde a um tipo de formação de produto gelificado): seis sem MTGase (identificadas nos códigos com **0**) e seis com 0,5% (w/w) de MTGase (identificadas nos códigos com **a**). A presença da letra **S**, nos códigos, significa que o produto contém 1,0% (w/w) de sal e a ausência desta letra significa que o produto contém 2,5% (w/w) de sal. Os códigos com a letra **C** (Controlos) significam que se trata de um produto sem incorporação de fibra dietética (FD). Os códigos com a letra **E** significam que o produto contém 4,0% (w/w) de Swe e os códigos com a letra **K** significam que o produto contém 2,0% (w/w) de Carr + 2,0% (w/w) de Kjc (para obter uma interação sinérgica é necessário combinar o Carr com o Kjc). Na Figura 3.1 é apresentado o esquema do desenho experimental.

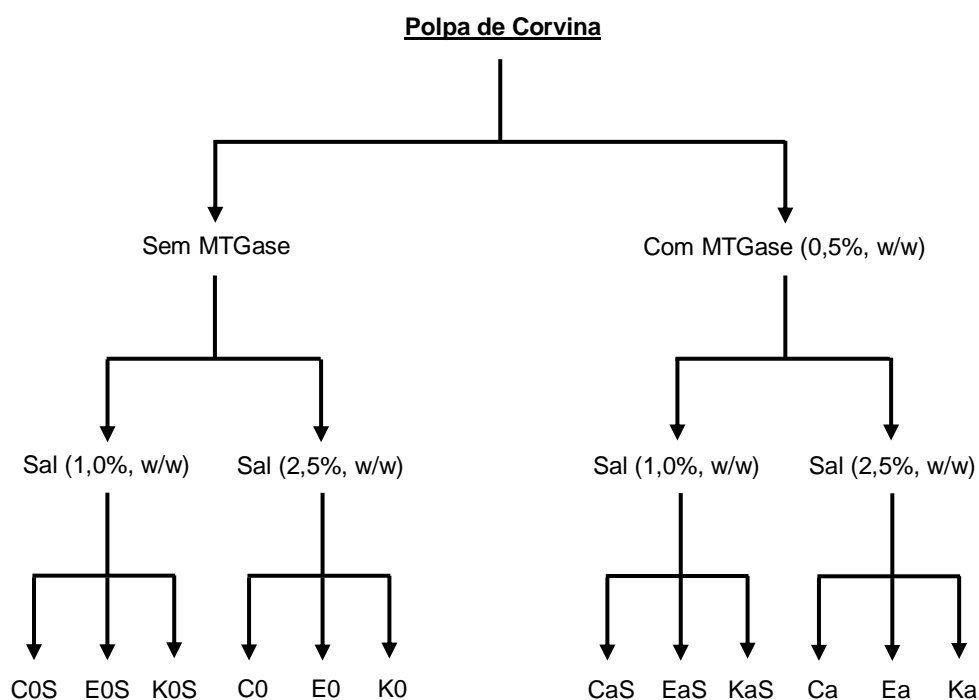


Figura 3.1 – Esquema do desenho experimental das formulações dos produtos gelificados de corvina.

Tabela 3.1 - Principais ingredientes e aditivos (% w/w) das doze formulações de produto.

Código da Amostra	Polpa de Corvina	Água	Sal	Solução de NaOH	MTGase	Swe	Carr	Kjc	Total
C0	77,3	18,2	2,5	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
Ca	75,1	19,9	2,5	2,0	0,5	0,0	0,0	0,0	100,0
C0S	83,9	13,1	1,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
CaS	81,7	14,8	1,0	2,0	0,5	0,0	0,0	0,0	100,0
E0	59,6	31,9	2,5	2,0	0,0	4,0	0,0	0,0	100,0
Ea	57,4	33,6	2,5	2,0	0,5	4,0	0,0	0,0	100,0
E0S	66,2	26,8	1,0	2,0	0,0	4,0	0,0	0,0	100,0
EaS	64,0	28,5	1,0	2,0	0,5	4,0	0,0	0,0	100,0
K0	59,6	31,9	2,5	2,0	0,0	0,0	2,0	2,0	100,0
Ka	57,4	33,6	2,5	2,0	0,5	0,0	2,0	2,0	100,0
K0S	66,2	26,8	1,0	2,0	0,0	0,0	2,0	2,0	100,0
KaS	64,0	28,5	1,0	2,0	0,5	0,0	2,0	2,0	100,0

3.2.3. Produção dos Produtos Gelificados de Corvina

Foram obtidos, a partir de filetes de corvina, aproximadamente 12 kg de polpa de corvina recorrendo a um separador mecânico, Baader 694 (Baader, Lübeck, Germany), equipado com um tambor circular perfurado com orifícios de 3 mm de diâmetro. Foram pesadas, de acordo com o descrito na Tabela 3.1, as quantidades de polpa de corvina, água (de forma a garantir o nível de humidade, de todos produtos, a 80%, w/w), sal, 2,0% (w/v) de solução aquosa de NaOH (necessário para desacetilar o Kjc, de forma a criar um gel termo-irreversível. Também adicionado a todas as outras formulações com o objectivo de evitar diferenças de pH), MTGase, Swe, Carr e Kjc, perfazendo um peso total de 1,3 – 1,4 kg por cada formulação.

De forma a hidratar o Swe, antes da mistura, foi adicionada, a esta fibra, água fria numa proporção 10:1 e mexeu-se durante 1 min. Para as formulações K, foi usado um procedimento diferente de forma a produzir o gel que resulta da interacção sinérgica entre o Kjc e o Carr. Em vez de adicionar o Kjc e o Carr aos outros ingredientes, preparou-se previamente o gel. Para preparar o gel, a farinha de konjac foi homogeneizada com água numa proporção de 1:13 e misturada com o carragenato, previamente homogeneizado em

água num proporção de 1:5. De seguida, foi adicionado um volume de solução aquosa de NaOH 2,0% (w/v), a fim de assegurar um valor de 2,0% (w/w) desta solução, em cada kg de produto final. A mistura foi deixada em recipientes adequados e a uma temperatura de 2 °C (durante a noite), de modo a formar um gel sólido e duro (Osburn & Keeton, 1994).

Posteriormente, a polpa de corvina foi misturada, com os ingredientes respectivos de cada formulação, num homogeneizador de lâminas horizontais, com sistema de vácuo e refrigeração, modelo UM12 (Stephan and Söhne, Hameln, Germany), durante 2 min a 1420 rpm e 2 min a 2800 rpm. A mistura foi sempre realizada sob vácuo e a uma temperatura inferior a 7 °C. As massas obtidas foram colocadas no interior de uma máquina de enchimento, modelo EB-12 hydraulic filler (Mainca Equipamientos Carnicos, S.L., Granollers, Espanha), e procedeu-se à produção de “salsichas” com um diâmetro de 25 mm e um comprimento de 20 cm, utilizando invólucros de celulose. De seguida as “salsichas” foram colocadas num banho de água a 35 °C durante 1 hora (*setting*) e depois, transferidas para um forno, modelo Combi-Master CM6 (Rational Grossküchen Technik GmbH, Landsberg am Lech, Germany) equipado com termómetro digital, onde foram cozidas em vapor a 90 °C durante 1 hora (Cardoso *et al.*, 2010), condições usuais para obter este tipo de produtos gelificados (Mendes *et al.*, 1997; Sánchez-González *et al.*, 2008). Por último, as “salsichas” foram arrefecidas em água com gelo e posteriormente colocadas em refrigeração a uma temperatura < 5 °C.

3.2.4. Determinação da Composição Química

A humidade e a cinza foram determinadas de acordo com os procedimentos padrão AOAC (AOAC, 1984). A proteína bruta foi determinada pelo método de Dumas no equipamento modelo, FP-528 LECO protein/nitrogen analyser (LECO Corp., St. Joseph, USA). A gordura bruta foi determinada pelo método rápido de extracção e purificação lipídica (Bligh & Dyer, 1959).

3.2.5. Determinação do pH

O pH foi determinado utilizando um medidor de pH, de modelo pH 539 (WTW, Weilheim, Germany), adaptado com um eléctrodo de superfície, Sen-Tix (WTW, Weilheim, Germany). O eléctrodo de superfície foi introduzido nas amostras e registaram-se os valores. As determinações do pH foram realizadas em triplicado para cada amostra.

3.2.6. Determinação da Capacidade de Retenção de Água

A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada através da modificação do método publicado por Sánchez-González *et al.* (2008), exactamente descrito no trabalho de Cardoso *et al.*, (2010).

3.2.7. Determinação da Textura

As análises de textura são compostas por uma variedade de diferentes testes, com o objectivo de avaliar diferentes aspectos físicos dos produtos. Antes de iniciar as determinações texturais retiraram-se, as amostras (“salsichas”), da refrigeração e deixaram-se durante alguns minutos à temperatura ambiente (20°C).

Em primeiro lugar foi realizado um teste de dobragem (*Folding test* - FT – teste manual e simples, utilizado pela indústria do *surimi* e que não requer a utilização do Texturómetro, contrariamente ao que acontece com os outros testes realizados). Para este teste cortaram-se pequenas rodela (3 milímetros) às amostras, que foram posteriormente dobradas, manualmente, de forma a avaliar a sua qualidade, de acordo com uma escala até 5 pontos (máximo): grau 5 - significa que não se observam fendas em nenhum dos quadrantes (duas dobras); grau 4 - significa que não se observam fendas quando se dobra em metade; grau 3 - significa que se desenvolvem gradualmente fendas quando se dobra em metade; grau 2 - significa que se desenvolvem fendas imediatamente quando se dobra em metade; grau 1 - significa que se esfarela com a pressão dos dedos (Cardoso *et al.*, 2010).

O teste que se seguiu foi um teste de Penetrometria (Mendes *et al.*, 1997). Para tal cortaram-se as amostras em cilindros, com 25 mm de diâmetro e 25 mm de altura, para análise (Anexo I – Fotografias de duas amostras de produtos gelificados de corvina. Figuras AI.1 e AI.2). Cada amostra foi penetrada até ao ponto de ruptura, com recurso a uma sonda metálica esférica de 5 mm de diâmetro, utilizando o texturómetro, de modelo Instron 4301 (Instron Engineering Corp., Canton, MA, USA). A velocidade de deslocação da sonda foi de 10 mm/min e utilizou-se uma célula de carga de 1000 N. Mediu-se assim a força de penetração à ruptura (BF) (N) e a deformação à ruptura (BD) (mm). A partir da multiplicação destes dois parâmetros obtém-se a força do gel (GS) (N.mm).

Seguidamente, realizou-se um teste de análise do perfil de textura (TPA), de acordo com Mendes *et al.*, (1997). Neste teste as amostras (25 mm de diâmetro e 25 mm de altura) foram comprimidas (compressão de 40%) na superfície da placa do texturómetro Instron recorrendo a uma sonda cilíndrica de 50 mm de diâmetro, adaptada a uma célula de carga de 1000 N e com uma taxa de deformação de 50 mm min⁻¹. Neste teste cada amostra foi comprimida sequencialmente duas vezes. Os parâmetros determinados com este teste

foram os seguintes: dureza (N), traduzida pela altura máxima do primeiro pico na primeira compressão (em termos de qualidade alimentar representa resistência da comida à primeira dentada); coesividade (A_2/A_1), razão entre a área da segunda compressão e a área da primeira compressão (manutenção da resistência do alimento durante a mastigação); gomosidade (N), produto da dureza com a coesividade (força requerida durante o processo de mastigação); *springiness* (L_2/L_1), razão da altura detectada, da amostra, entre a segunda compressão e a primeira compressão (capacidade de um alimento readquirir a forma e o tamanho inicial, após a primeira dentada) e mastigabilidade (N), produto da gomosidade com a *springiness* (embora expressa em N, é uma medida da energia gasta no processo de mastigação).

Foi realizado ainda um teste de compressão-relaxação em que as condições são as mesmas que as referidas no teste de análise do perfil de textura, excepto que as amostras são apenas comprimidas uma única vez e durante 1 minuto. A relaxação (%) foi calculada como $Y_T = 100 \times (F_0 - F_1) / F_0$, onde F_0 é a força registada no início da relaxação, imediatamente após a compressão da amostra, e F_1 é a força registada depois de 1 minuto de relaxação. Assim $(100 - Y_T)$, é tomado como um índice da elasticidade e é expresso como a percentagem da elasticidade do gel (Mendes *et al.*, 1997).

Por último, realizou-se um teste com uma compressão mais drástica (80%), que imita o processo de mastigação da boca humana (Bourne, 1994) e é denominado como teste de ruptura por compressão, de forma a medir a força de compressão à ruptura e a distância à ruptura. As condições em que este teste se realizou foram as mesma que o teste de análise do perfil de textura, mas agora com uma compressão de 80%. Todas as determinações foram realizadas em quadruplicado.

3.2.8. Determinação da Cor

Foram determinados os parâmetros L^* , a^* e b^* do sistema CIELAB (ver em Anexo II), colocando directamente as amostras (cilindros de 25 mm de diâmetro e 25 mm de altura) na superfície de medição do colorímetro, de modelo MACBETH COLOUR-EYE® 195 3000 (Macbeth, New Windsor, USA). Os valores obtidos para L^* , a^* e b^* resultam da média de quatro medições feitas em cada amostra. A partir destes parâmetros foram calculados os valores de *Chroma* (cromaticidade) e *Whiteness* (luminosidade), recorrendo às seguintes fórmulas:

$$Chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$Whiteness = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

3.2.9. Análise estatística

Foi utilizado um modelo linear normal e realizou-se uma análise factorial de variância – ANOVA factorial tridimensional, com desenho factorial completo. Para tal recorreu-se ao software STATISTICA® (StatSoft, Inc., Tulsa, EUA), versão 6.1, de 2003. Esta metodologia estatística permitiu a análise de cada um dos efeitos estudados (MTGase, nível de sal e adição de fibra dietética), bem como a interação entre efeitos. A diferença das médias entre os pares foi resolvida utilizando intervalos de confiança do teste de Tukey HSD. O nível de significância foi definido para $p < 0,05$. Para os parâmetros, força de penetração à ruptura, deformação à ruptura, elasticidade e cor (a^* , b^* , *Whiteness* e *Chroma*), como não cumpriram o pressuposto da homogeneidade das variâncias, foi necessário realizar uma análise não-paramétrica, através do teste Kruskal-Wallis.

3.3. Resultados e Discussão

3.3.1. Composição Química

Os valores da composição química para a humidade e para a gordura revelaram-se bastante semelhantes, em todos os produtos gelificados, sendo respectivamente 79 e 2,0% (w/w). No que respeita aos conteúdos em proteína e cinza foram detectadas diferenças. A proteína variou entre 17,7% (w/w) no C0S e 12,5% (w/w) no K0. Esta diminuição no teor proteína entre o C0S e o K0 corresponde à redução na quantidade de polpa de corvina adicionada, na formulação dos produtos, de 83,9% (w/w) no C0S para 59,6% (w/w) no K0 (Tabela 3.1). A escolha de manter o nível de humidade a 80% (w/w), em todos os produtos, levou a uma maior adição de água aos produtos que continham fibra dietética, como é o caso das formulações E e K. Assim, existe um efeito de diluição da proteína, o que mostra uma correlação com a quantidade de FD adicionada. No que respeita ao teor de cinza, foi detectada uma diminuição de 3,4 para 1,8% (w/w) entre o C0 e o C0S, respectivamente. Esta variação já era expectável uma vez que o produto C0S tem um menor teor de sal que o produto C0 (1,0 vs 2,5% (w/w)).

3.3.2. pH

Relativamente aos valores do pH, apresentados na Tabela 3.2, foram observados dois efeitos principais: um ligeiro aumento do pH, com a adição de MTGase, nos pares C0-Ca, C0S-CaS, E0-Ea (com diferenças significativas ($p < 0,05$)) e, um aumento mais acentuado no caso dos produtos com a incorporação de Carr+Kjc ($7,00 \pm 0,07$ para a média de todos os géis Controlo, $6,91 \pm 0,06$ para média dos géis E e $7,23 \pm 0,03$ para média dos géis K).

O aumento do pH, nos produtos com MTGase, pode estar relacionado com a formação de amoníaco, que ocorre durante o estabelecimento das ligações covalentes, ϵ -amino-(γ -glutamil)-lisina (entre os resíduos de glutamina e lisina, das cadeias pesadas da miosina), catalisadas pela MTGase (Cardoso *et al.*, 2009).

No caso do aumento do pH, detectado nos produtos com incorporação das fibras de Carr+Kjc, uma explicação possível poderá estar relacionada com efeitos indirectos da própria FD, provavelmente, resultantes da alteração da conformação das proteínas que levam à exposição de grupos proteicos mais ou menos ácidos (Cardoso *et al.*, 2009). A utilização da solução de NaOH, necessária ao processo de desacetilação do Kjc, não pode ser vista como explicação, uma vez que esta solução também foi adicionada a todas as outras formulações com o propósito de evitar variações do pH.

Tabela 3.2 – Valores do pH e da Capacidade de Retenção de Água (CRA) dos produtos gelificados de corvina.^{a,b}

Código da Amostra	Fibra dietética	Sal (% w/w)	MTGase (% w/w)	pH	CRA (%)
C0	-	2,5	0,0	6,95 ± 0,03 ^{bc}	69,6 ± 5,6 ^{bcd}
Ca	-	2,5	0,5	7,03 ± 0,03 ^{de}	70,9 ± 1,3 ^{bcd}
C0S	-	1,0	0,0	6,94 ± 0,03 ^{bc}	69,6 ± 2,1 ^{bcd}
CaS	-	1,0	0,5	7,08 ± 0,04 ^{de}	70,6 ± 3,4 ^{bcd}
E0	Swe	2,5	0,0	6,82 ± 0,01 ^a	65,6 ± 1,6 ^{abc}
Ea	Swe	2,5	0,5	6,90 ± 0,00 ^b	64,7 ± 5,1 ^{ab}
E0S	Swe	1,0	0,0	6,95 ± 0,01 ^{bc}	59,9 ± 1,9 ^a
EaS	Swe	1,0	0,5	6,97 ± 0,03 ^{cd}	65,7 ± 4,8 ^{abc}
K0	Carr+Kjc	2,5	0,0	7,20 ± 0,01 ^f	78,1 ± 2,5 ^d
Ka	Carr+Kjc	2,5	0,5	7,21 ± 0,01 ^f	79,1 ± 0,5 ^d
K0S	Carr+Kjc	1,0	0,0	7,21 ± 0,02 ^{fg}	74,1 ± 1,2 ^{cd}
KaS	Carr+Kjc	1,0	0,5	7,27 ± 0,01 ^g	78,0 ± 0,9 ^d

^a Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão.

^b Dentro de cada coluna os valores com letras diferentes são significativamente diferentes entre si (p < 0,05).

3.3.3. Capacidade de Retenção de Água

Os valores da capacidade de retenção de água (CRA) são apresentados na Tabela 3.2. Os níveis de sal e de MTGase não tiveram nenhum efeito na CRA. A ausência de qualquer efeito do sal, na CRA, mostrou que um nível de 1,0% (w/w) de sal é suficiente, para obter uma extracção e solubilização proteica capaz de reter todas as moléculas de águas livres no produto (não foram detectadas diferenças significativas entre C0S e C0). Estes resultados opõem-se aos obtidos num trabalho, onde se preparam produtos gelificados de robalo (Cardoso *et al.*, 2010), uma vez que o nível de sal teve influência na CRA.

A ausência de efeito da MTGase na CRA contrasta com diferentes estudos, onde é reportada uma acção positiva da MTGase na CRA (Cardoso *et al.*, 2009; Ramírez *et al.*, 2007). Contudo, já foi observado, em alguns produtos, que a MTGase não teve efeito significativo nas propriedades de ligação da água (Pietrasik & Jarmoluk, 2003). Outros trabalhos mais recentes, com produtos gelificados de robalo, também reportam igualmente uma ausência de efeito da MTGase na CRA (Cardoso *et al.*, 2010; 2011a). As características da matéria-prima podem estar na origem dos diferentes efeitos da MTGase na CRA, uma vez que no estudo de Cardoso *et al.*, (2010), os níveis de sal e de MTGase foram idênticos aos utilizados neste trabalho.

No que respeita à FD, a sua adição, teve efeito na CRA. Enquanto nos géis sem adição de FD (géis Controlo) a CRA esteve entre 69,6-70,9%, nos géis E registaram-se valores inferiores (59,9 e 65,7%) e foi nos géis K que se observaram os valores mais elevados 74,1-79,1%. Os valores da CRA, obtidos nos produtos com a incorporação da FD de Swe, deveriam ser mais elevados que os dos géis Controlo, uma vez que esta fibra apresenta pectinas e amido, na sua constituição, que têm uma elevada capacidade de reter as moléculas de água, tal como descrito no trabalho de Borderías *et al.*, (2005). A melhoria da CRA, em *surimi* de cavala, com a adição de 4,0% (w/w) de FD de Swe, tal como neste trabalho, já foi reportada num outro trabalho (Cardoso *et al.*, 2009). A elevada higroscopicidade do Carr+Kjc explica, os elevados valores de CRA obtidos, sendo este mesmo efeito relatado em outros trabalhos (Xiong *et al.*, 2009; Gómez-Guillén & Montero, 1996). De acordo com Borderías *et al.*, (2005), as fibras de algas, como é o caso dos carragenatos, podem apresentar uma CRA até vinte vezes superior ao seu volume em matéria seca. Por fim, importa referir que a CRA dos produtos sem qualquer adição de aditivos (C0 e C0S) foi muito boa, comparando favoravelmente com produtos com os mesmos níveis de sal (2,5 e 1,0% (w/w)), mas feitos com polpa de robalo (Cardoso *et al.*, 2010).

3.3.4. Textura

Os resultados do teste de dobragem (FT), força de penetração à ruptura (BF), deformação à ruptura (BD), elasticidade e análise do perfil de textura (TPA), estão presentes na Tabela 3.3. A força de compressão à ruptura e a distância à ruptura, resultante da compressão a 80%, estão apresentadas na Tabela 3.4.

Os valores do FT, teste que permite avaliar rapidamente a qualidade dos géis, indicaram uma qualidade aceitável de todos os produtos, sendo o valor máximo (5), alcançado em todos os produtos que continham MTGase. Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os produtos com e sem MTGase, com duas excepções importantes, E0 vs Ea e K0 vs Ka. Estas excepções derivam dos valores elevados (próximos do máximo, 5), obtidos em E0 e K0.

Em relação à BF, todos os pares (**0** - sem MTGase e **a** - com MTGase) apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$). Além disso, a comparação estatística entre as médias de todos os géis, **0** e **a**, revelou diferenças, sendo estes últimos mais fortes ($4,7 \pm 1,0$ vs $2,7 \pm 0,9$ N). A adição de FD também reforçou os géis ($p < 0,05$) (maior BF), o que é particularmente evidente pela comparação das três seguintes formulações, C0-E0-K0.

Relativamente à deformação à ruptura (BD), esta também foi reforçada pela adição de MTGase como é confirmado pela comparação dos pares C0-Ca, C0S-CaS, E0S-EaS, K0-Ka, e K0S-KaS, e pelos valores das médias globais de BD ($10,38 \pm 1,86$ vs $7,09 \pm 1,88$ mm) dos géis **a** e **0**, respectivamente. A combinação de Carr+Kjc reduziu a deformação, levando ao endurecimento dos géis, apresentado as médias globais de BD, diferenças significativas pela seguinte ordem: $7,03 \pm 1,59$ (Géis K) $< 9,10 \pm 2,88$ (Géis C - Controlo) $< 10,09 \pm 1,79$ mm (Géis E). Em contraste a adição de fibra de ervilha (Swe) melhorou a deformação dos géis e aumentou a dureza. Quanto à elasticidade não foram detectadas diferenças significativas entre as amostras.

A incorporação de MTGase revelou melhorias significativas ($p < 0,05$) na textura, em todos os parâmetros do TPA: os géis ficaram mais duros (em média) ($33,2 \pm 10,3$ vs $30,7 \pm 11,2$ N) e a coesividade melhorou. No que respeita à FD, o principal efeito detectado foi o aumento da dureza dos produtos de $23,8 \pm 0,3$ (média de todos os géis C) para $25,8 \pm 0,3$ (média de todos os géis E) e $46,3 \pm 0,4$ N (média de todos os géis K). Associado ao aumento da dureza verificou-se o aumento do parâmetro da mastigabilidade com a adição das fibras dietéticas, atingindo-se os valores mais elevados nos géis K. A redução do nível de sal não afectou a maioria das propriedades, com excepção do FT, da elasticidade e da *springiness*. Vale a pena referir que o produto com um nível de sal mais baixo e com adição

de MTGase (CaS), apresentou propriedades muito semelhantes, ao produto correspondente que tinha 2,5% (w/w) de sal (Ca), o que revela os benefícios da adição desta enzima.

Em relação à força de compressão à ruptura, obtida na compressão a 80% (Tabela 3.4), houve uma duplicação notável da força, nos produtos sem FD, que tinham incorporação de MTGase. No entanto, os géis que continham FD e MTGase não foram tão fortalecidos como os anteriores. A combinação da MTGase com as fibras dietéticas não parece ter revelado uma grande sinergia. A acção da FD, por si só, também teve um efeito muito positivo no aumento da força de compressão à ruptura (E0 e K0). Foi no conjunto dos géis K que se observaram os valores mais elevados. De facto, a força de compressão à ruptura aumentou de $127,7 \pm 49,5$ (média global dos géis Controlo) para $154,2 \pm 48,0$ (média global dos géis de E) e $174,4 \pm 38,0$ N (média global dos géis K). A redução do nível de sal levou a uma diminuição da força de compressão à ruptura, como se vê pela comparação das médias de todos os produtos com 2,5% (w/w) e 1,0% (w/w) sal, $154,4 \pm 47,7$ e $144,8 \pm 49,0$ N, respectivamente.

A distância à ruptura também foi muito reforçada com adição MTGase e de FD de ervilha. A distância máxima à ruptura (20 mm, que significa 80% da altura das amostras) foi atingida, sem se verificar qualquer ruptura, no produto CaS e nos produtos com FD de Swe que continham 2,5% (w/w) sal (E0 e Ea).

Os benefícios texturais observados, com a utilização de MTGase, também são encontrados em diversos outros estudos (Cardoso *et al.*, 2007, 2011a; Ramírez *et al.*, 2000; Téllez-Luis *et al.*, 2002). A acção desta enzima é bem conhecida. Aumenta o *cross-linking* das proteínas, uma vez que catalisa o estabelecimento de ligações covalentes ϵ -amino-(γ -glutamil)-lisina (entre os resíduos de glutamina e lisina, das cadeias pesadas da miosina), durante o *setting* (Kumazawa *et al.*, 1993), levando à formação de uma rede proteica mais densa e coesa. Neste estudo, os benefícios texturais desta enzima foram mais evidentes para o GS do que para a dureza. Relativamente a este assunto, existem opiniões diferentes. Enquanto alguns autores consideram que as ligações S-S (ligações dissulfureto) e outras ligações covalentes, com maior deformação, levam a um aumento do GS (Havea *et al.*, 2004), outros, associam este tipo de ligações a um aumento da dureza dos géis (Pérez-Mateos *et al.*, 1997).

Relativamente à incorporação de FD, são observados diferentes efeitos, em função do tipo de fibra. A fibra de ervilha (Swe) teve um efeito positivo na textura, aumentando a BF, a BD, a dureza, assim como a força de compressão à ruptura e a distância à ruptura. Estes resultados podem ser devidos aos conteúdos em amido e pectina, existentes na fibra Swe, que são responsável por promover a formação de uma matriz gelificada mais firme e coesa (Cardoso *et al.*, 2007; Borderías *et al.*, 2005). Em outros estudos (Cardoso *et al.*, 2008a;

Cardoso *et al.*, 2009) também encontramos resultados muito semelhantes aos obtidos. Foi demonstrado que a adição de um nível de Swe, idêntico ao utilizado (4%, w/w), melhorou a textura (GS e dureza) de produtos preparados a partir de polpas de pescada (*Merluccius capensis*) (Cardoso *et al.*, 2008a).

Os produtos gelificados, com adição de Carr+Kjc apresentaram valores de dureza mais elevados e a força de compressão à ruptura também aumentou (revelando maior resistência mecânica). Entre os produtos C0 e K0S a dureza duplicou, sem ser detectada qualquer diferença de amolecimento associada à redução do sal. A nível do aumento da dureza, o Carr+Kjc teve um efeito muito positivo, no entanto, ao contrário da MTGase, teve um impacto negativo nos parâmetros de força de penetração à ruptura e deformação à ruptura, afectando negativamente a força do gel (GS). Esta aparente falta de correlação entre estes parâmetros texturais (GS e dureza) já foi intensamente estudada por Lee & Chung, (1989). De acordo com estes autores, enquanto os testes de compressão medem a globalidade das propriedades de ligação de um gel, os testes de penetração avaliam o grau de compactação ou densidade da actomiosina. De acordo com esta interpretação, o Carr+Kjc aumentou fortemente as propriedades gerais de ligação do gel, mas, ao contrário da MTGase, não teve um grande impacto na compactação da rede proteica do gel.

O sal é um ingrediente que tem um papel determinante no desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados. Desta forma, a redução dos níveis de sal, requer a utilização de aditivos, de modo a compensar os possíveis impactos negativos na textura. Contudo, a comparação entre os produtos C0 e C0S, revelou, que a redução do nível de sal de 2,5% para 1,0% (w/w) não teve um efeito significativo na textura. Estes resultados opõem-se aos obtidos num outro trabalho, onde foram desenvolvidos produtos gelificados, com baixos teores de sal, a partir de robalo (Cardoso *et al.*, 2010). Parece que o efeito negativo, em reduzir o nível de sal, na extractabilidade proteica e consequentemente nas propriedades mecânicas (Zimmerman *et al.*, 1996), foi compensado pela elevada concentração de proteína. Efectivamente o teor de proteína era mais elevado no produto C0S do que no produto C0, 17,7 vs 17,1% w/w, o que corresponde a uma maior quantidade de polpa de corvina no produto, 83,9 vs 77,3% w/w (Tabela 3.1).

Foi nos géis, que continham incorporação de FD, que a redução do nível de sal teve alguns efeitos negativos nas propriedades mecânicas, sendo o FT, a elasticidade, a *springiness* e a força de compressão à ruptura, os parâmetros que apresentaram valores mais reduzidos. Nestes produtos, além da concentração de proteína ser menor (devido à incorporação de FD), a presença da FD pode ter perturbado o processo de solubilização da proteína, através do sal, tornando o nível de sal de 1,0% (w/w) insuficiente, sendo por isso afectadas algumas propriedades mecânicas. No entanto, os parâmetros do teste de

penetrometria (BF e BD), não foram afectados. Este resultado é oposto à conclusão de um outro trabalho (Ramírez *et al.*, 2007), onde o autor refere que o GS é o parâmetro mais dependente do nível de sal (com e sem MTGase).

Para vermos, qual a combinação de aditivos mais eficiente interessa comparar os seguintes produtos, CaS (adição de MTGase e redução de sal), E0S (adição de fibra de ervilha e redução de sal), K0S (adição de Carr+Kjc e redução de sal) e C0 (sem redução de sal). Esta comparação revela que a MTGase, é o aditivo que é mais eficaz, evitando o surgimento de problemas texturais associados aos baixos teores de sal. Estudos recentes já demonstraram a viabilidade de utilizar a MTGase como ferramenta tecnológica, no desenvolvimento de produtos reestruturados de frango com baixos teores de sal (Cofrades *et al.*, 2011). A MTGase permitiu que no produto CaS se obtivesse uma força do gel (GS - produto da BF pela BD) superior a 70 N.mm, com um excelente nível de coesividade. Estes são resultados surpreendentes, uma vez que foram obtidos com polpas de corvina não lavadas e são comparáveis com os géis de *surimi* da melhor qualidade, usados na indústria, obtidos a partir do escamudo do Alasca (*Theragra chalcogramma*) (Park, 2005b).

A capacidade de gelificação, alcançada com a utilização de polpas de corvina não lavadas, foi muito boa, e comprova-se, com os positivos resultados texturais obtidos. Isto revela que as polpas desta espécie apresentam um elevado potencial tecnológico para produzir uma grande diversidade de produtos de pescado reestruturados. Estudos anteriores (Cardoso *et al.*, 2011a,b), utilizando robalo (*Dicentrarchus labrax*) e dourada (*Sparus aurata*) de aquacultura, já mostram um bom potencial de gelificação. Uma possível explicação, para a qualidade da gelificação destas diferentes espécies de aquacultura, pode ser devida ao baixo nível de desnaturação proteica, do peixe de aquacultura, relativamente ao peixe selvagem. As técnicas de captura e o tempo que decorre entre a captura e a comercialização podem ter uma grande influência na qualidade da proteína.

Tabela 3.3 – Teste de dobragem, força de penetração à ruptura, deformação à ruptura, elasticidade e TPA (análise do perfil de textura a 40% de compressão) dos produtos gelificados de corvina.^{a,b}

Código da Amostra	Fibra dietética	Sal (% w/w)	MTGase (% w/w)	Teste de Dobragem	Força de penetração à Ruptura (N)	Deformação à Ruptura (mm)	Elasticidade (%)	Dureza (N)	Coesividade	Springiness	Mastigabilidade (N)
C0	-	2,5	0,0	2,3 ± 0,6 ^{ab}	1,4 ± 0,2 ^a	6,44 ± 1,30 ^{abc}	53,8 ± 1,1 ^{ab}	22,2 ± 1,4 ^a	0,51 ± 0,01 ^{ab}	0,86 ± 0,01 ^{cde}	9,7 ± 0,7 ^a
Ca	-	2,5	0,5	5,0 ± 0,0 ^d	3,2 ± 0,5 ^c	11,23 ± 0,66 ^{fg}	63,0 ± 0,1 ^{abc}	23,8 ± 1,4 ^{ab}	0,63 ± 0,02 ^{ef}	0,89 ± 0,01 ^e	13,0 ± 0,6 ^{bc}
C0S	-	1,0	0,0	2,0 ± 0,0 ^a	1,9 ± 0,1 ^{ab}	6,42 ± 0,15 ^{abc}	55,0 ± 0,7 ^{abc}	21,3 ± 0,6 ^a	0,52 ± 0,02 ^{abc}	0,84 ± 0,01 ^{bc}	9,3 ± 0,2 ^a
CaS	-	1,0	0,5	5,0 ± 0,0 ^d	5,9 ± 0,8 ^g	12,32 ± 1,04 ^g	64,6 ± 0,3 ^{abc}	27,8 ± 3,4 ^{bc}	0,66 ± 0,02 ^f	0,88 ± 0,02 ^{de}	16,3 ± 1,9 ^d
E0	Swe	2,5	0,0	5,0 ± 0,0 ^d	3,5 ± 0,3 ^{cd}	10,58 ± 0,61 ^f	61,3 ± 1,2 ^{abc}	23,8 ± 2,2 ^{ab}	0,56 ± 0,02 ^{bcd}	0,85 ± 0,01 ^{bcd}	10,7 ± 0,4 ^{ab}
Ea	Swe	2,5	0,5	5,0 ± 0,0 ^d	4,7 ± 0,6 ^{ef}	11,98 ± 1,02 ^{fg}	66,3 ± 0,5 ^c	25,4 ± 2,3 ^{abc}	0,63 ± 0,02 ^{ef}	0,86 ± 0,01 ^{cde}	14,4 ± 0,8 ^{cd}
E0S	Swe	1,0	0,0	3,3 ± 0,6 ^c	2,7 ± 0,4 ^{bc}	7,53 ± 0,70 ^{bcd}	58,1 ± 1,2 ^{abc}	25,4 ± 1,4 ^{abc}	0,56 ± 0,02 ^{cd}	0,83 ± 0,00 ^{ab}	12,1 ± 0,6 ^{abc}
EaS	Swe	1,0	0,5	5,0 ± 0,0 ^d	4,4 ± 0,3 ^{de}	10,26 ± 0,56 ^{ef}	66,1 ± 0,8 ^{bc}	28,7 ± 2,5 ^c	0,63 ± 0,01 ^{ef}	0,86 ± 0,01 ^{bcd}	14,7 ± 1,0 ^{cd}
K0	Carr+Kjc	2,5	0,0	4,7 ± 0,6 ^d	3,4 ± 0,7 ^c	6,00 ± 0,55 ^{ab}	56,9 ± 0,2 ^{abc}	47,3 ± 4,5 ^{de}	0,51 ± 0,02 ^{ab}	0,84 ± 0,01 ^{bc}	19,9 ± 1,8 ^{ef}
Ka	Carr+Kjc	2,5	0,5	5,0 ± 0,0 ^d	4,8 ± 0,8 ^{ef}	8,61 ± 1,08 ^{de}	65,0 ± 0,3 ^{abc}	43,1 ± 1,4 ^d	0,59 ± 0,00 ^{de}	0,85 ± 0,01 ^{bcd}	21,4 ± 0,5 ^f
K0S	Carr+Kjc	1,0	0,0	3,0 ± 0,0 ^{bc}	3,3 ± 0,2 ^c	5,59 ± 1,41 ^a	53,1 ± 0,2 ^a	44,4 ± 3,2 ^d	0,47 ± 0,02 ^a	0,80 ± 0,01 ^a	17,3 ± 1,0 ^{de}
KaS	Carr+Kjc	1,0	0,5	5,0 ± 0,0 ^d	5,5 ± 0,5 ^{fg}	7,91 ± 0,69 ^{cd}	55,8 ± 0,0 ^{abc}	50,3 ± 2,6 ^e	0,52 ± 0,00 ^{abc}	0,83 ± 0,01 ^{abc}	21,6 ± 1,6 ^f

^a Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão.

^b Dentro de cada coluna os valores com letras diferentes são significativamente diferentes entre si (p < 0,05).

Tabela 3.4 - Força de compressão à ruptura e distância à ruptura (compressão a 80%) dos produtos gelificados de corvina.^{a,b}

Código da Amostra	Fibra dietética	Sal (% w/w)	MTGase (% w/w)	Força compressão à ruptura (N)	Distância à ruptura (mm)
C0	-	2,5	0,0	80,7 ± 18,7 ^a	13,82 ± 1,47 ^{ab}
Ca	-	2,5	0,5	160,8 ± 15,1 ^{cde}	20,00 ± 0,00 ^e
C0S	-	1,0	0,0	91,9 ± 6,2 ^{ab}	14,99 ± 0,30 ^{bc}
CaS	-	1,0	0,5	183,2 ± 24,1 ^{cdef}	20,00 ± 0,00 ^e
E0	Swe	2,5	0,0	158,5 ± 13,6 ^{cd}	20,00 ± 0,00 ^e
Ea	Swe	2,5	0,5	212,7 ± 6,8 ^f	20,00 ± 0,00 ^e
E0S	Swe	1,0	0,0	89,4 ± 11,3 ^{ab}	15,77 ± 0,65 ^{abc}
EaS	Swe	1,0	0,5	156,4 ± 29,4 ^c	19,80 ± 0,35 ^e
K0	Carr+Kjc	2,5	0,0	134,7 ± 13,1 ^{bc}	16,31 ± 1,04 ^{abcd}
Ka	Carr+Kjc	2,5	0,5	208,9 ± 16,2 ^{ef}	19,54 ± 0,80 ^{de}
K0S	Carr+Kjc	1,0	0,0	146,0 ± 17,3 ^c	12,97 ± 1,69 ^a
KaS	Carr+Kjc	1,0	0,5	207,9 ± 13,1 ^{def}	18,95 ± 0,91 ^{cde}

^a Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão.

^b Dentro de cada coluna os valores com letras diferentes são significativamente diferentes entre si (p < 0,05).

3.3.5. Cor

Relativamente aos parâmetros da cor, apresentados na Tabela 3.5, a variação do nível de sal, a adição de MTGase e o tipo de FD levaram a algumas alterações. A redução do sal levou a um avermelhamento e amarelecimento dos produtos, uma vez que a* aumentou de um intervalo entre -2,69 e -2,23 (nos produtos com 2,5% (w/w) de sal) para -2,35 e -1,94 (nos produtos com 1% (w/w) de sal) e, b* também aumentou de 5,43 – 6,51 (nos produtos com 2,5% (w/w) de sal) para 6,03 – 7,00 (nos produtos com 1% (w/w) de sal), levando consequentemente ao aumento da cromaticidade. Uma possível explicação, para estas variações da cor, com o nível de sal, poderá estar relacionada com a influência da força iónica no nível de conjugação de alguns pigmentos existentes na polpa de corvina e/ou nas

fibras dietéticas. A incorporação de MTGase levou a algum escurecimento dos géis, apenas detectável através da comparação estatística das médias de todos os géis **0** e géis **a** ($77,0 \pm 1,8$ vs $75,5 \pm 2,8$), respectivamente. As alterações de cor podem estar relacionadas com o nível de desnaturação da proteína, durante a cozedura. O efeito de escurecimento da MTGase pode significar, um menor nível de desnaturação proteica dos géis que continham MTGase. As ligações proteicas, ϵ -amino-(γ -glutamil)-lisina, promovidas pela MTGase, durante o *setting*, podem evitar a desnaturação proteica durante a cozedura (Cardoso *et al.*, 2009). Relativamente ao tipo de FD, a incorporação de Carr+Kjc levou a algum escurecimento, ou seja, foi no conjunto dos géis K que se observaram os valores de luminosidade mais reduzidos, como se vê na Tabela 3.5. Este escurecimento devido à FD era facilmente percepcionável a olho nu.

Tabela 3.5 – Parâmetros da cor dos produtos gelificados de corvina.^{a,b}

Código da Amostra	Fibra dietética	Sal (% w/w)	MTGase (% w/w)	a*	b*	Luminosidade (Whiteness)	Cromaticidade (Chroma)
C0	-	2,5	0,0	$-2,23 \pm 0,09^{abc}$	$6,51 \pm 0,08^{ab}$	$78,8 \pm 0,8^b$	$6,88 \pm 0,06^{ab}$
Ca	-	2,5	0,5	$-2,46 \pm 0,12^{abc}$	$6,13 \pm 0,25^{ab}$	$77,7 \pm 0,4^{ab}$	$6,61 \pm 0,21^{ab}$
C0S	-	1,0	0,0	$-1,94 \pm 0,06^c$	$6,60 \pm 0,17^{ab}$	$78,8 \pm 0,3^b$	$6,88 \pm 0,16^{ab}$
CaS	-	1,0	0,5	$-2,19 \pm 0,08^{abc}$	$7,00 \pm 0,23^b$	$77,0 \pm 0,4^{ab}$	$7,33 \pm 0,22^b$
E0	Swe	2,5	0,0	$-2,48 \pm 0,03^{abc}$	$5,82 \pm 0,07^{ab}$	$76,9 \pm 0,1^{ab}$	$6,33 \pm 0,07^{ab}$
Ea	Swe	2,5	0,5	$-2,69 \pm 0,04^a$	$5,43 \pm 0,12^a$	$75,6 \pm 0,2^{ab}$	$6,06 \pm 0,11^a$
E0S	Swe	1,0	0,0	$-2,11 \pm 0,02^{bc}$	$6,94 \pm 0,09^b$	$78,0 \pm 0,2^{ab}$	$7,26 \pm 0,08^b$
EaS	Swe	1,0	0,5	$-2,31 \pm 0,02^{abc}$	$6,68 \pm 0,13^{ab}$	$76,9 \pm 0,7^{ab}$	$7,07 \pm 0,12^{ab}$
K0	Carr+Kjc	2,5	0,0	$-2,53 \pm 0,12^{ab}$	$5,92 \pm 0,28^{ab}$	$75,1 \pm 1,0^{ab}$	$6,44 \pm 0,24^{ab}$
Ka	Carr+Kjc	2,5	0,5	$-2,31 \pm 0,59^{abc}$	$5,45 \pm 0,97^{ab}$	$71,2 \pm 4,7^a$	$5,95 \pm 0,88^{ab}$
K0S	Carr+Kjc	1,0	0,0	$-2,35 \pm 0,14^{abc}$	$6,03 \pm 0,32^{ab}$	$74,4 \pm 0,7^a$	$6,47 \pm 0,31^{ab}$
KaS	Carr+Kjc	1,0	0,5	$-2,33 \pm 0,11^{abc}$	$6,36 \pm 0,49^{ab}$	$74,6 \pm 1,2^a$	$6,77 \pm 0,46^{ab}$

^a Os valores apresentados correspondem à média \pm desvio padrão.

^b Dentro de cada coluna os valores com letras diferentes são significativamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

3.4. Conclusão

A capacidade de gelificação, alcançada com a utilização de polpas de corvina não lavadas, foi muito boa, e comprova-se, com os positivos resultados de textura e de CRA obtidos, mesmo para os produtos que não tinham a incorporação de qualquer aditivo. Isto revela que as polpas desta espécie apresentam um elevado potencial tecnológico para produzir uma grande diversidade de produtos de pescado reestruturados.

A adição de MTGase teve um efeito favorável na textura dos produtos, melhorando a gelificação, no entanto, quando combinada com as fibras dietéticas, não revelou uma grande sinergia. A utilização de um reduzido nível de sal, combinado com MTGase, provou ser uma boa estratégia, assegurando uma qualidade de gelificação semelhante aos géis, de qualidade padrão, produzidos a partir de *surimi* do escamudo do Alasca, com uma força do gel superior a 70 N.mm.

A fibra de ervilha melhorou a textura dos produtos, no entanto reduziu a CRA. Por outro lado, a combinação de Carr+Kjc levou a um aumento da CRA e da dureza dos géis. Para os produtos que continham FD, a redução do nível de sal teve alguns efeitos negativos nas propriedades mecânicas, nomeadamente, no teste de dobragem, na elasticidade, na *springiness* e na força compressão à ruptura.

Em conclusão, este estudo confirma que existe potencial para desenvolver produtos funcionais de elevada qualidade, a partir da combinação de polpas de corvina com fibras dietéticas, diversificando assim a oferta de produtos de pescado reestruturados.

Nota: Os resultados apresentados neste capítulo foram submetidos para publicação científica.

4. Alterações da Qualidade durante o Armazenamento em Refrigeração, de Salsichas de Corvina (*Argyrosomus regius*) com Fibra Dietética Antioxidante de Uva

4.1. Introdução

A corvina (*Argyrosomus regius*) é uma espécie da família Sciaenidae, que tem vindo a ganhar importância económica no sector da aquacultura. As excelentes características biológicas, as elevadas taxas de crescimento, índice de conversão alimentar e prolificidade, têm promovido a aquacultura desta espécie (Hernández *et al.*, 2009). Mas, as corvinas de tamanho pequeno (400 - 700 g) apresentam dificuldades de comercialização, uma vez que têm uma cabeça muito grande, grandes espinhas, pouca carne e reduzida qualidade sensorial (Monfort, 2010). Para contrariar esta tendência, o desenvolvimento de produtos alternativos, a partir desta matéria-prima pode ser vantajoso. Por outro lado, a preferência dos consumidores por produtos mais saudáveis tem promovido o desenvolvimento de novos alimentos. Combinar polpas de pescado com novos aditivos alimentares, é algo que tem sido feito com o objectivo de diversificar as ofertas comerciais e criar produtos funcionais atractivos, para o consumidor mais preocupado com questões de saúde (Borderías *et al.*, 2005).

Uma salsicha Frankfurt de corvina com todos os ingredientes típicos de uma salsicha deste tipo, mais fibra dietética (FD) como aditivo, pode perfeitamente ser um desses produtos inovadores e funcionais. Um produto semelhante, no entanto desenvolvido com pescada, como matéria-prima, é algo que já foi feito anteriormente (Cardoso *et al.*, 2008b).

A FD é frequentemente usada no desenvolvimento de alimentos funcionais (Puupponen-Pimä *et al.*, 2002). A importância que a FD desempenha na nutrição e na saúde é bem conhecida (Anderson *et al.*, 1990; Kritchevsky & Bonfield, 1995). Os produtos que contêm FD vão desde os alimentos tradicionais (cereais de pequeno almoço, pão, bolachas e biscoitos) aos chamados suplementos dietéticos.

A incorporação de FD em produtos da pesca é um novo campo de investigação, com resultados bastante promissores. Algumas fibras dietéticas extraídas de algas, tais como, os carragenatos (Ortiz & Aguilera, 2004), ou de sementes, como é o caso da goma de guar (Montero *et al.*, 2000), têm sido aplicadas a produtos da pesca com um propósito tecnológico. Nomeadamente, os produtos gelificados feitos a partir de polpa de verdinho (*Micromesistius poutassou*) e adicionados de goma de guar apresentam uma capacidade de retenção de água superior aos produtos Controlado (sem adição de fibra) (Montero *et al.*, 2000). Também já foi demonstrado, que a combinação de 4% (w/w) de FD de ervilha e até

2,0% (w/w) de 1+κ carragenatos aumenta a dureza de produtos de pescado reestruturados (Cardoso *et al.*, 2007).

De entre os diferentes tipos de fibras dietéticas, a fibra de uva é aquela que recentemente tem sido alvo de um maior número de estudos (Sánchez-Alonso *et al.*, 2008; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2009), no âmbito do desenvolvimento de produtos alimentares, com maior capacidade antioxidante e um prazo de validade mais alargado. A fibra dietética antioxidante de uva (FDAU) é um aditivo, que combina os benefícios nutricionais, associados à ingestão da FD, com uma capacidade antioxidante natural. De facto, de entre diversos frutos, as uvas constituem uma das principais fontes de compostos polifenólicos (Yildirim *et al.*, 2005). Além disso, os extractos dos bagaços de uva são considerados uma fonte barata de antioxidantes (Garrido *et al.*, 2011) e as peles de uva apresentam compostos que têm potencial antimicrobiano (Katalinić *et al.*, 2010). As propriedades antioxidantes e a composição dos polifenóis das uvas, têm sido o objectivo de vários estudos (González-Paramás *et al.*, 2004; Yilmaz & Toledo, 2004). Já foi relatado que os polifenóis são capazes de retardar a oxidação lipídica em polpas de pescado (Pazos *et al.*, 2005). Estudos mais recentes têm mostrado que a FDAU (> 4% (w/w)), retarda a oxidação lipídica de polpas de pescado, durante o armazenamento em congelação (Sánchez-Alonso *et al.*, 2007a; Sánchez-Alonso *et al.*, 2008).

Neste trabalho foi feito o estudo da estabilidade de duas salsichas Frankfurt de corvina com FD – uma com 5,2% (w/w) de fibra de raiz de chicória + 3,9% (w/w) de fibra de ervilha (Salsichas Controlo) e a outra com 5,2% (w/w) de fibra de raiz de chicória + 0,9% (w/w) de fibra de ervilha + 3,0% (w/w) de FDAU (Salsichas de FDAU). Para o efeito foi realizada a caracterização da composição química, do perfil de ácidos gordos, da composição em aminoácidos, dos exsudados, da textura, do perfil reológico dinâmico, das contagens microbiológicas, da cor, do pH, da actividade de eliminação de radicais (RSA), do poder redutor (PR), das substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e da análise sensorial. O estudo foi desenvolvido durante 98 dias, com as salsichas armazenadas em refrigeração (2 °C ± 2 °C), a fim de avaliar a eficácia da capacidade antioxidante, da FDAU, assim como, o seu impacto na qualidade do produto.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Matéria-prima, Ingredientes, Aditivos e Reagentes

No mês de Janeiro do corrente ano, foi capturada corvina de aquacultura (*Argyrosomus regius*), directamente dos tanques pertencentes às instalações da estação piloto de aquacultura do L – IPIMAR, localizadas em Olhão. Depois de recolhidos, os peixes foram abatidos por imersão em pequenos tanques contendo uma mistura de água e gelo, numa

proporção 1:1. O peso de cada peixe variou entre 600 – 700 g. Posteriormente, os peixes foram imediatamente transportados a uma temperatura de $2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para o laboratório de Lisboa (IPIMAR), onde ficaram a baixas temperaturas ($< 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) até ao dia seguinte, durante o qual foram eviscerados e filetados. Os filetes obtidos foram imediatamente utilizados como matéria-prima. Foram obtidos, a partir de filetes de corvina, aproximadamente 3,5 kg de polpa de corvina recorrendo a um separador mecânico, Baader 694 (Baader, Lübeck, Germany), equipado com um tambor circular perfurado com orifícios de 3 mm de diâmetro.

No que respeita à FD, foram utilizados dois produtos que já mostraram um efeito favorável nas propriedades texturais de produtos de pescado reestruturados (Cardoso *et al.*, 2007): fibra de ervilha (Swelite) e fibra de raiz de chicória (Fibruline), também chamada de inulina. Ambos os produtos foram fornecidos por Cosucra, S.A. (Warcoing, Belgium). A composição específica (baseada em matéria seca) da fibra Swelite é de 48% FD, 36% amido e 7% proteína. A fibra de Fibruline apresenta um teor mínimo de 90% de FD (Anónimo, 2005a; 2005b). Ambos os produtos são pós brancos com uma granulometria inferior a 400 μm e 700 μm , para a Swelite e Fibruline, respectivamente (Anónimo, 2005a; 2005b). Foi utilizado ainda um terceiro produto, fibra dietética antioxidante de uva (FDAU), preparado a partir das peles de uvas brancas, da casta portuguesa Arinto, recolhidas nas instalações do INIA em Oeiras. As peles de uva foram congeladas a -20°C , moídas, passadas por um peneiro com crivos de 1 mm, lavadas para remover os açúcares e secas, de modo a obter o produto designado por FDAU. Este produto apresenta uma coloração amarelada e possui uma granulometria inferior a 1000 μm .

Todos os outros aditivos utilizados foram de grau alimentar, produzidos por diferentes empresas: amido de batata da Emsland-Stärke GmbH (Emlichheim, Germany); caseinato de sódio (TARIPROT[®] 1010, EM6[®]) da DMV International BV (Veghel, The Netherlands); concentrado de proteína de soja (SOLCON/MAICON 70) da Solbar Hatzor Ltd. (Ashdod, Israel); sal (VATEL[®]) da VATEL, Alverca, Portugal; aroma de fumo (TAROMA[®]) da BK Giulini (Ladenburg, Germany). Foi utilizado ainda transglutaminase microbiana – TG-K MTGase, ACTIVA[®] GS, fornecida pela Ajinomoto (Tokyo, Japan), apresentando uma actividade de $70 \pm 10\text{ U.g}^{-1}$. Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico e foram fornecidos pela Merck KGaA (Darmstadt, Germany).

4.2.2. Desenho Experimental

Foi feita uma avaliação física, química, nutricional, microbiológica e sensorial, ao longo de 98 dias de armazenamento em refrigeração, a dois grupos de salsichas Frankfurt de corvina contendo diferentes fibras dietéticas (salsichas Controlo com 3,9%, w/w, de Swelite e salsichas de FDAU com 0,9%, w/w, Swelite e 3,0%, w/w, FDAU), submetidas às mesmas condições de processamento e embalagem. Ao longo do tempo de armazenamento as amostras foram retiradas para análise ao 1º, 14º, 28º, 42º, 63º, 77º e 98º dia. Para cada tipo de salsicha (Controlo e de FDAU), foram retiradas duas embalagens (cada uma com duas salsichas) em cada dia de análise.

4.2.3. Produção das Salsichas de Corvina

Foram pesadas as quantidades apropriadas de polpa de corvina e de todos os ingredientes e aditivos (Tabela 4.1), perfazendo um peso total de 3 kg de massa para cada tipo de salsicha. No que respeita à preparação das massas, a polpa de corvina foi misturada com os ingredientes e aditivos, num homogeneizador de lâminas horizontais, com sistema de vácuo e refrigeração, modelo UM12 (Stephan and Söhne, Hameln, Germany), durante 2 min a 1420 rpm e 2 min a 2800 rpm. A mistura foi sempre realizada sob vácuo e, a uma temperatura inferior a 7 °C. As massas obtidas foram colocadas no interior de uma máquina de enchimento, modelo EB-12 hydraulic filler (Mainca Equipamientos Carnicos, S.L., Granollers, Espanha), e procedeu-se à produção de salsichas com um diâmetro de 25 mm e um comprimento de 20 cm, utilizando invólucros de celulose. De seguida as salsichas foram colocadas num banho de água a 35 °C durante 30 minutos (*setting*) e depois, transferidas para um forno, modelo Combi-Master CM6 (Rational Grossküchen Technik GmbH, Landsberg am Lech, Germany) equipado com termómetro digital, onde foram cozidas em vapor a 75 °C durante 15 minutos (cozedura). Imediatamente depois, as salsichas foram arrefecidas numa mistura de água e gelo (1:1, v/v). Os invólucros de celulose foram depois removidos das salsichas sendo estas posteriormente embaladas a vácuo (40 mbar), em sacos PA/PE (Poliamida/Polietileno) (cada saco apenas com um tipo de salsicha), num embalador de vácuo A300/52 (Multivac Sepp Haggenmüller GmbH & Co. KG, Wolfertschwenden, Germany). Depois deste procedimento, as salsichas, já embaladas, foram colocadas no mesmo forno e submetidas a uma cozedura a vapor a 90° C durante 10 minutos, após o que, foram imediatamente arrefecidas em água com gelo, sendo por fim colocadas em refrigeração a uma temperatura de 2 °C ± 2 °C. (Anexo I – Fotografias das salsichas de corvina Controlo e de FDAU – Figuras AI.3, AI.4 e AI.5).

Tabela 4.1 – Formulação das salsichas Controlo e das salsichas de FDAU.

INGREDIENTES e ADITIVOS (%)	TIPO DE SALSICHA	
	Controlo	FDAU
Polpa de corvina	57,7	57,7
Água	25,8	25,8
Fibruline	5,2	5,2
Swelite	3,9	0,9
FDAU	0,0	3,0
Amido de batata	3,4	3,4
Caseinato de sódio	1,3	1,3
Proteína de soja	1,1	1,1
Sal	1,0	1,0
MTGase	0,5	0,5
Aroma a fumo	0,1	0,1
Total (%)	100	100

4.2.4. Avaliação da Estabilidade do Produto

4.2.4.1. Determinação da Composição Química

Os parâmetros determinados para a composição química, assim como, os métodos utilizados foram os mesmos que estão descritos no ponto **3.2.4**. O total de hidratos de carbono foi calculado por diferença.

4.2.4.2. Determinação do Perfil de Ácidos Gordos

O perfil de ácidos gordos foi determinado pelo método de hidrólise ácida, de acordo com Bandarra *et al.* (1999).

4.2.4.3. Determinação da Composição em Aminoácidos

De forma a quantificar o teor total em aminoácidos (proteína ligada + livre), foram colocados 20 - 40 mg de amostra, de cada tipo de salsicha, em tubos Nalgene Teflon*Fep de 10 ml, com 3 ml de uma solução 6 M de HCl e 0,1% fenol, de acordo com o método AOAC (1996). Os tubos foram submetidos a vácuo e colocados numa atmosfera de azoto, sendo as amostras hidrolisadas a 110 °C durante 24 horas; os hidrolisados foram filtrados (com filtros com um tamanho de poro de 0.45 µm) e dissolvidos com água destilada Milli-Q, num volume de 20 ml. As amostras foram congeladas a – 80 °C e depois liofilizadas, a -50 °C durante 48 horas, a uma baixa pressão (10^{-1} atm). De seguida as amostras foram dissolvidas em 5 ml de uma solução de HCl 0,1 M e armazenadas a – 80 °C, até à separação dos aminoácidos. Os aminoácidos totais foram separados por cromatografia líquida de alta resolução (Agilent 1100 HPLC, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), numa coluna Phenomenex Gemini ODS C18 110A (4,6 mm x 150 mm, 5 µm), de acordo com Henderson *et al.*, (2000). Foi utilizado o método de derivatização pré-coluna. Como reagentes de derivatização foram usados: o o-ftalaldeído e ácido 3-mercaptopropiónico em tampão borato (OPA, Agilent Technologies) e o 9-fluorenilmetilcloroformato em acetonitrilo (FMOC; Agilent Technologies). Os comprimentos de onda de detecção foram fixados em UV (338 e 262 nm) e em fluorescência (340/450 nm e 266/305 nm). A identificação e quantificação dos aminoácidos foram realizadas, por comparação com os tempos de retenção dos picos e a área dos picos de aminoácidos padrão (Sigma), utilizando como padrões internos Norvalina e Sarcosina.

4.2.4.4. Determinação do Nível de Exsudação

Retiraram-se duas embalagens, de cada tipo de salsicha, da refrigeração a 2 °C ± 2 °C. Em primeiro lugar as embalagens foram pesadas (peso total, *TW*). Depois, abriram-se as embalagens e retiraram-se as salsichas, sendo estas secas com papel e pesadas (peso das salsichas, *SW*). Da mesma forma, as embalagens também foram secas com papel e pesadas (peso da embalagem, *PW*). O nível de exsudação (*EX*) foi calculado através da seguinte fórmula:

$$EX = \frac{(TW - (SW + PW))}{TW} \times 100$$

4.2.4.5. Determinação de Medições Texturais e Medição Reológica Dinâmica

Os parâmetros texturais foram avaliados, exactamente, como descrito no ponto 3.2.7. Sendo apenas avaliado o teste de dobragem, a elasticidade e a dureza. Para a realização da Medição Reológica Dinâmica (DRM) preparam-se as massas das salsichas (Controlo e de FDAU), com as mesmas proporções de ingredientes e aditivos, tal como se encontra na Tabela 4.1. As condições de realização do ensaio foram as mesmas que as que estão descritas no trabalho de Cardoso *et al.*, (2011c).

4.2.4.6. Realização de Análises Microbiológicas

Foram misturados 25 gramas de amostra, de cada tipo de salsicha, com 225 ml de MRD (Maximum Recovery Diluent, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) estéril, num Stomacher (Stomacher 400 Lab Blender, Seward Medical, London, UK) durante 2 minutos. Foram feitas diluições decimais utilizando MRD estéril, realizando-se as inoculações em duplicado. As contagens das bactérias mesófilas e psicrófilas foram determinadas em Lyngby Iron Agar (IA) (Scharlau Chemie, S.A., Barcelona, SP), com uma incubação a 30 °C, durante 72 horas e 6,5 °C, durante 10 dias, respectivamente. Foi feita a contagem selectiva das bactérias produtoras de H₂S (bactérias sulfitorredutoras), através da contagem das colónias negras formadas em IA. As *Enterobacteriaceae* foram analisadas em Agar VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) em dupla camada (30 °C – 48 h), sendo as colónias presuntivas confirmadas por testes de fermentação da glucose e a presença de oxidase. As bactérias lácticas foram analisadas em MRSA (Man Rogosa and Sharp Agar, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) em dupla camada, incubado durante 48 h - 30 °C, mais 24 h - 22 °C. Também foram realizadas análises para a detecção de esporos de clostrídios sulfitorredutores, num meio selectivo de agar – *Perfringens* acc., da ANGELOTTI (SPS, Merck, KGaA, Darmstadt, Germany), em condições anaeróbias de incubação, a 37 °C durante 5 dias. Para a quantificação de *Listeria*, foram pré-enriquecidos, 25 gramas de amostra, em água peptonada tamponada, seguindo-se depois o espalhamento, por sementeira, em placa num meio cromogénico selectivo de *Listeria* (ALOA). Outros 25 gramas de amostra, também foram pré-enriquecidos em água peptonada tamponada, seguindo-se a realização de um teste rápido (Oxoid Ltd., Hampshire, UK), para a detecção de *Salmonella*, de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados apresentados são expressos como log das unidades formadoras de colónias (UFC), por grama de amostra (log UFC/g). Os resultados, para a detecção de *Salmonella*, são apresentados como presença/ausência em 25 gramas de produto.

4.2.4.7. Determinação da Cor

A determinação da cor foi realizada exactamente como descrito no ponto 3.2.8.

4.2.4.8. Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada exactamente como descrito no ponto 3.2.5.

4.2.4.9. Determinação da Actividade de Eliminação de Radicais

A actividade de eliminação de radicais (RSA) foi determinada no 1º e 98º dia do estudo, de acordo com o método descrito por Shimada *et al.* (1992). Para cada tipo de salsicha, tempo de armazenamento e replicado analítico, foram pesados 120 mg de amostra, de cada tipo de salsicha, para um tubo de centrifuga, adicionaram-se 3 ml de água destilada e homogeneizou-se num misturador, modelo Polytron PT 300 (Kinematica AG, Littau, Switzerland). De seguida, foram adicionados 3 ml de uma solução etanólica de 0,1 mM 1,1-difenil-2-picrilhidrazina (DPPH) e agitou-se no vortex. Posteriormente, a mistura foi incubada durante 1 hora a 24 °C, num banho com agitação, seguindo-se uma centrifugação a 10 000 x g durante 10 minutos. Foi medida a absorvância a 517 nm. A RSA, em percentagem, foi determinada através da seguinte fórmula:

$$RSA = \left(\frac{A_0 - A_{amostra}}{A_0} \right) \times 100$$

Onde,

A_0 – Absorvância do branco (preparado com água destilada).

$A_{amostra}$ – Absorvância da amostra.

As análises foram realizadas em quadruplicado.

4.2.4.10. Determinação do Poder Redutor

O poder redutor (PR) foi determinado no 1º e 98º dia do estudo, de acordo com método descrito por Oyaizu, (1988). Para cada tipo de salsicha, tempo de armazenamento e replicado analítico, foram pesados 120 mg de amostra, de cada tipo de salsicha, para um tubo de centrifuga, adicionaram-se 3 ml de água destilada e homogeneizou-se num misturador, modelo Polytron PT 300 (Kinematica AG, Littau, Switzerland). De seguida, foram adicionados 3 ml de um tampão fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 3 ml de uma solução de ferricianeto de potássio 1,0% (w/v). Os tubos foram agitados no vortex. Posteriormente a mistura foi incubada durante 20 minutos a 50 °C. Seguidamente, foram adicionados 3 ml de uma

solução de ácido tricloroacético 10% (w/v) e centrifugou-se a 5 000 x g durante 10 minutos. Desta mistura, foram retirados 2 ml de sobrenadante e misturou-se com 2 ml de água destilada e 0,4 ml de uma solução de cloreto de ferro (III) 0,1% (w/v), numa *cuvette* de 4,5 ml. A mistura final foi incubada durante 10 minutos à temperatura ambiente. A absorvância foi medida a 700 nm. Preparou-se uma curva de calibração com um conjunto de soluções de ácido ascórbico, cujas concentrações variaram entre, 0,00 a 0,08 mg/ml. O poder redutor foi expresso em mg de equivalentes de ácido ascórbico por grama de amostra. As análises foram realizadas em quadruplicado.

4.2.4.11. Determinação das Substâncias Reactivas ao Ácido Tiobarbitúrico

As substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas, durante todo o período de armazenamento, a partir de extractos de TCA 7,5%, que foram analisados pelo método de HPLC descrito por Mendes *et al.* (2009). Para cada tipo de salsicha e tempo de armazenamento, foram preparados dois extractos, cada um a partir de uma amostra de um pacote diferente. Os resultados foram expressos em mg de malonaldeído por 1000 g de salsicha.

4.2.4.12. Análise Sensorial

A avaliação sensorial foi realizada por cinco provadores treinados. Os provadores foram previamente preparados em mais de cinco sessões de treino. Após as sessões de treino, em condições adequadas e com uma folha de prova preliminar, os provadores discutiram os resultados com dois objectivos principais, desenvolver parâmetros sensoriais para as características do produto e definir conceitos comuns para avaliar cada parâmetro. Desta forma, foi criada uma folha de prova específica para o produto, ficando os provadores familiarizados com os parâmetros sensoriais a avaliar e capazes realizar uma avaliação de acordo com uma escala específica (Nielsen *et al.*, 2002).

As salsichas foram retiradas das embalagens e deixadas durante uns minutos à temperatura ambiente (20 °C), sendo de seguida cortadas em pedaços de 2 cm. Estes pedaços foram distribuídos em pratos brancos e apresentados aos provadores, pela ordem respectiva para avaliação. A avaliação dos produtos foi realizada numa sala específica de análise sensorial, com cabines individuais e iluminação artificial adequada, sendo os resultados registados numa folha de avaliação sensorial (Anexo III). Os membros do painel avaliaram os diferentes parâmetros do produto através de uma escala de 0 – 5: cor (0 – claro, 5 – escuro); aroma a peixe, aroma a fumo e aroma desagradável (0 – ausente, 5 -

excessivo); elasticidade (0 – plástico, 5 – elástico), dureza (0 – suave, 5 – duro), coesividade (0 – pouco coeso, 5 – muito coeso), suculência (0 – seco, 5 - succulento), oleosidade (0 – seco, 5 - oleoso), textura desagradável (0 – ausente, 5 - excessiva); sabor - a salgado, a amargo, a peixe, a fumo e desagradável (0 – ausente, 5 - excessivo); sensação residual – a sal, a fumo, oleosa e adstringente (0 – ausente, 5 - excessivo).

4.2.5. Análise Estatística

Foi utilizado um modelo linear normal – ANOVA factorial bidimensional, com um desenho factorial completo, de forma a determinar as diferenças significativas ($p < 0,05$), entre as salsichas de corvina, com diferentes formulações (salsichas Controlo vs salsichas de FDAU) e ao longo do tempo de armazenamento. As comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Tukey HSD, com excepção das TBARS, cujos valores, não cumpriram com o pressuposto da homogeneidade das variâncias e, como tal, foi necessário realizar uma análise não-paramétrica, através do teste de Kruskal-Wallis. O tratamento estatístico foi todo realizado com o software STATISTICA® - StatSoft, Inc. (Tulsa, OK, USA), versão 6.1, de 2003.

4.3. Resultados e Discussão

4.3.1. Perfil Nutricional

A caracterização nutricional e sensorial de um novo produto é uma parte fundamental do seu processo de desenvolvimento. Assim, foi determinada a composição química, o perfil de ácidos gordos e a composição em aminoácidos das salsichas de corvina (Controlo e de FDAU). As salsichas Controlo e de FDAU também foram estudadas ao longo do tempo de armazenamento em refrigeração ($2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), a fim de avaliar a sua estabilidade e, em particular, o efeito da incorporação da FDAU sobre os parâmetros da qualidade relacionados com a oxidação dos ácidos gordos do produto.

A composição química (Figura 4.1), o perfil de ácidos gordos (Figuras 4.2 e Figura 4.3) e a composição em aminoácidos (Figura 4.4), de ambos os produtos, não mostraram diferenças significativas. Estes resultados estão de acordo com as formulações (Tabela 4.1) e, mostraram, que a incorporação da FDAU, não afectou a composição global, bem como os componentes da gordura e da proteína das salsichas. O conteúdo calórico máximo (assumindo uma digestão total e assimilação dos hidratos de carbono) foi semelhante entre os dois produtos, variando entre 110 kcal/100 g -120 kcal/100 g. Estes resultados permitem

classificar estas salsichas de corvina como um produto hipocalórico. Relativamente ao perfil de ácidos gordos, os resultados reflectiram, na maioria, a composição lipídica da corvina de aquacultura, uma vez que não havia mais nenhuma outra fonte de gordura, entre os ingredientes dos produtos. O conteúdo em DHA (22:6 ω 3) (13,8-13,9%) foi superior ao conteúdo em ácido linoleico (18:2 ω 6) (10,3%-10,9%) e os ácidos gordos polinsaturados ω 3 PUFA (24,5%-24,7%), apresentaram também valores mais elevados que os ω 6 PUFA (11,4-12,0%). É possível estimar que, através do consumo de 150 g de salsicha de corvina, se ingerem até 420 mg de EPA (20:5 ω 3) + DHA. Este valor constitui uma parte muito significativa da ingestão diária recomendada de EPA+DHA, tal como o proposto pela Associação Americana do Coração (AHA), que é de 500 mg/dia (Kris-Etherton *et al.*, 2002). Além disso, aproximadamente 80% das necessidades diárias em aminoácidos essenciais, tal como recomendado pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2002), 184 mg/(kg de peso corporal, dia), são alcançadas, por uma pessoa com 60 kg de peso, com o consumo de 150 g de salsicha de corvina (8,56 g/150 g de salsicha vs 11,04 g/dia). Ambas as salsichas apresentaram um elevado conteúdo em FD, o que demonstra ainda mais os benefícios, para a saúde, associados ao consumo destes produtos inovadores (Anderson *et al.*, 1990; Kritchevsky & Bonfield, 1995) e verdadeiramente funcionais.

Quanto aos teores de humidade, gordura, cinza e hidratos de carbono, não foram registadas alterações, durante o tempo de armazenamento. No entanto, o nível de proteína aumentou (significativamente ($p < 0,05$)), nas salsichas Controlo, de $12,3 \pm 0,4\%$ para $13,6 \pm 0,4\%$ (Tabela 4.2). O perfil de ácidos gordos das salsichas Controlo e das salsichas de FDAU foi semelhante no início e no fim do estudo, não havendo uma degradação significativa dos ácidos gordos ω 3 PUFA, que são aqueles que são quimicamente mais instáveis e propensos à oxidação, como se vê nas Figuras 4.2 e 4.3.

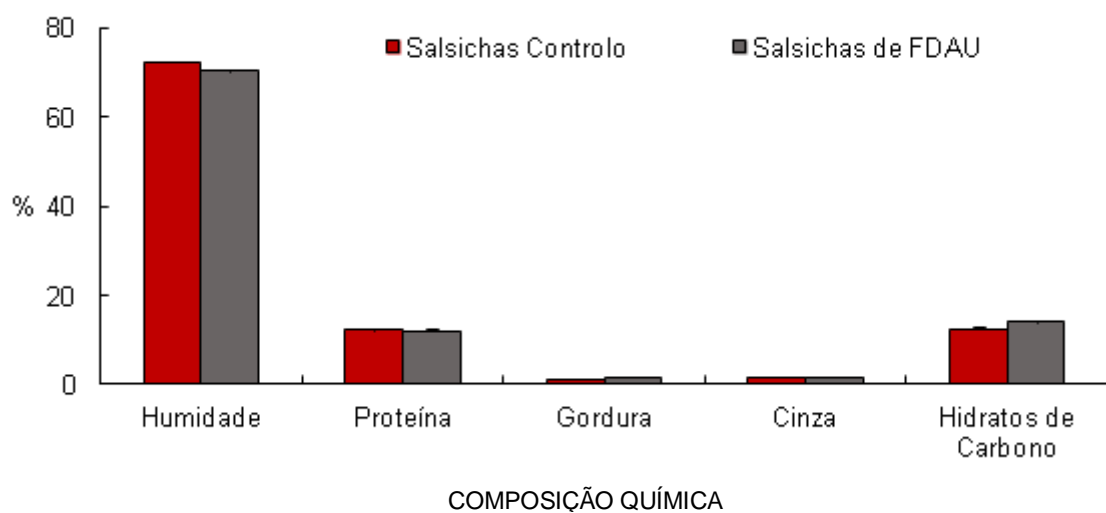


Figura 4.1 – Composição química das salsichas de corvina (Controlo e de FDAU).

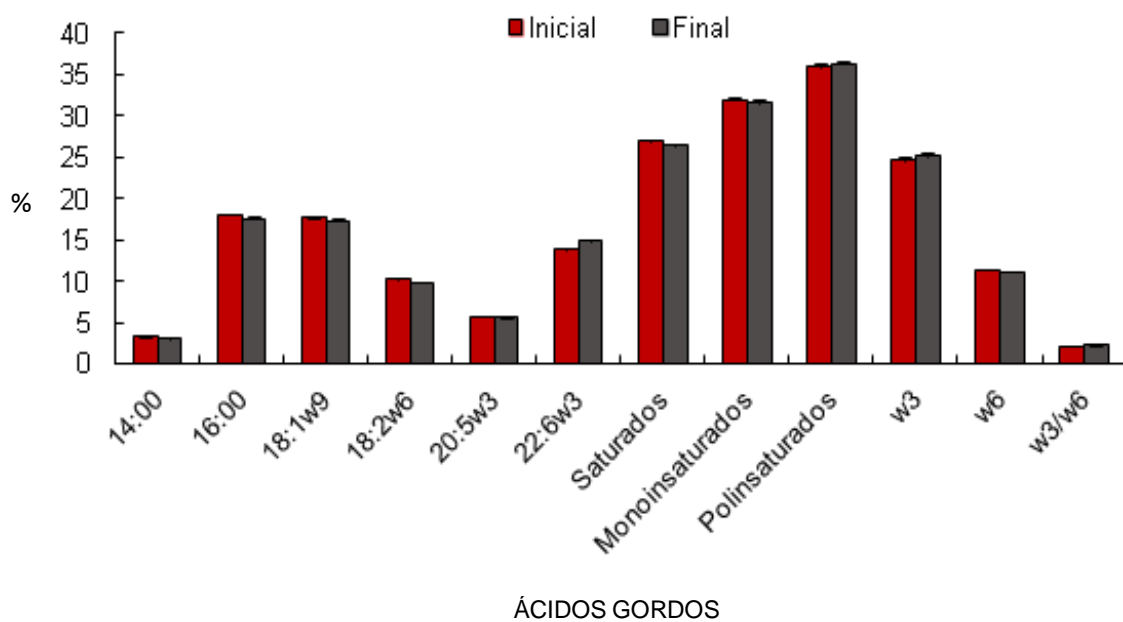


Figura 4.2 – Perfil de ácidos gordos das salsichas Controlo no início e no fim do estudo.

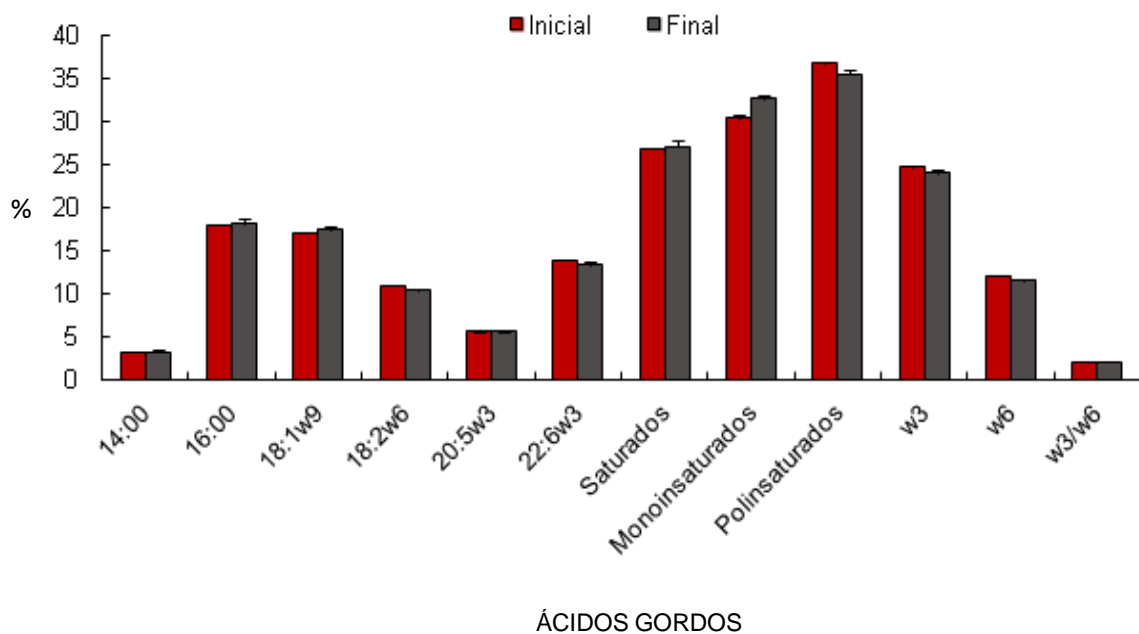


Figura 4.3 – Perfil de ácidos gordos das salsichas de FDAU no início e no fim do estudo.

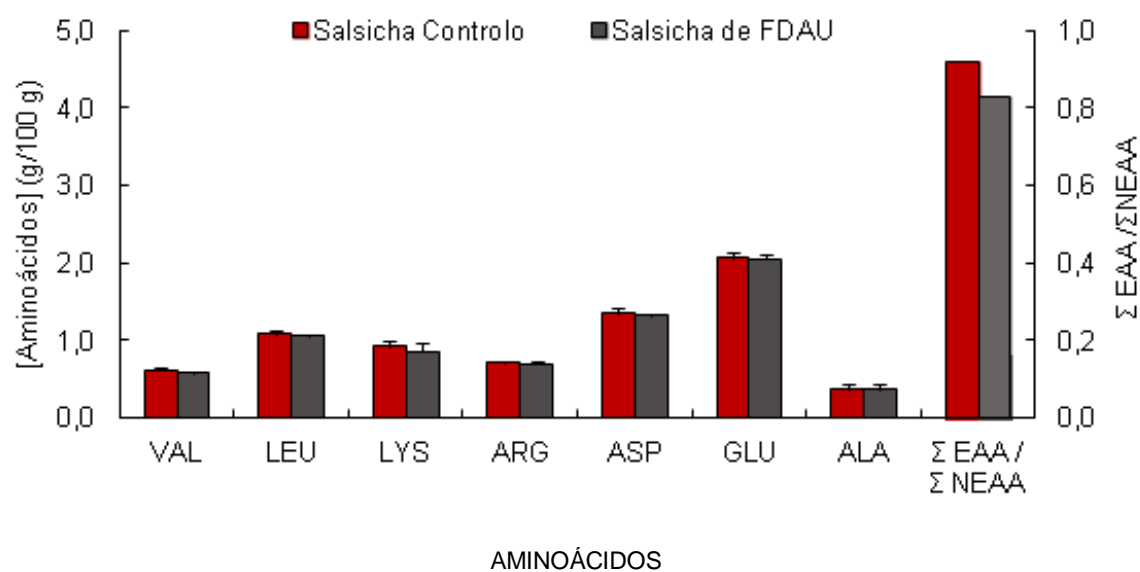


Figura 4.4 – Composição em aminoácidos das salsichas de corvina (Controlo e de FDAU) no início do estudo (no eixo esquerdo é apresentada a concentração de aminoácidos e no eixo direito a razão entre o somatório dos aminoácidos essenciais e não essenciais $\Sigma \text{EAA} / \Sigma \text{NEAA}$).

4.3.2. Exsudação, Medições Texturais e Medição Reológica Dinâmica

Os valores da exsudação são apresentados na Tabela 4.2. As salsichas de FDAU mostraram valores de exsudação superiores ($p < 0,05$) aos das salsichas Controlo. Enquanto as salsichas Controlo perderam mais humidade após o 63º dia, as salsichas de FDAU apresentaram valores de exsudação significativamente superiores logo após o 42º dia, atingindo um valor máximo, no último dia, de $3,1 \pm 0,5\%$. Isto é algo contraditório, uma vez que não houve nenhum aumento significativo no teor de proteína, para este tipo de salsicha, como se vê na Tabela 4.2. No entanto, tal facto pode dever-se aos baixos valores de exsudação observados e, consequente a um erro relativo associado, que pode decorrer de um procedimento não muito preciso, uma vez que as embalagens e as salsichas sofreram um processo de secagem manual com papel.

As propriedades texturais são apresentadas na Tabela 4.2. O teste de dobragem (FT), foi significativamente ($p < 0,05$) mais elevado nas salsichas Controlo do que nas salsichas de FDAU. As salsichas Controlo também foram mais elásticas ($56,8\% - 59,8\%$ vs $30,0\% - 39,6\%$) e mais duras ($49,1 \text{ N} - 58,6 \text{ N}$ vs $29,9 \text{ N} - 39,8 \text{ N}$), do que, as salsichas de FDAU, não tendo sido detectada qualquer alteração significativa ao longo do tempo de armazenamento. Estes resultados mostraram que a incorporação da FDAU teve um efeito negativo na textura instrumental. Tal facto pode ser devido à granulometria da FDAU, que apresentava grãos com dimensões superiores aos da FD de ervilha (Swe) ($<1000 \mu\text{m}$ vs $<400 \mu\text{m}$). No que respeita a este tema, num estudo realizado com FD de trigo, não foi detectado nenhum efeito significativo do tamanho da FD nos parâmetros da textura (Sánchez-Alonso *et al.*, 2007a), contudo, a FD utilizada por estes autores nunca ultrapassou os $250 \mu\text{m}$. Além disso, o efeito nos parâmetros da textura depende da quantidade e do tipo de fibra insolúvel que é adicionada aos produtos (Cofrades *et al.*, 2000), assim como, da capacidade hidratação da própria fibra (Thebaudin *et al.*, 1997).

Relativamente ao tempo de armazenamento, a ausência de uma evolução clara, nomeadamente, um efeito de endurecimento, indicou uma muito boa preservação dos produtos em refrigeração. Outros estudos, já demonstraram que a exsudação pode aumentar a concentração da proteína nos produtos, levando ao seu endurecimento (Andrés *et al.*, 2006; Park, 2005a). Contudo, existem outros estudos, desenvolvidos a baixa temperatura (4°C), tal como este estudo, que relatam a ausência de qualquer efeito, do tempo de armazenamento, na textura (Panpipat & Yongsawatdigul, 2007).

Tendo como objectivo avaliar a influência da incorporação da FDAU, foi estudada, por medição reológica dinâmica (Figura 4.5), a formação de géis proteicos, durante o aquecimento das massas cruas das salsichas Controlo e de FDAU. O módulo de armazenamento ou conservativo, G' , uma medida da rigidez de um gel, foi seguido durante

o ciclo de aquecimento. Na Figura 4.5, são apresentadas as curvas reológicas para as massas das salsichas Controlo e de FDAU. As duas curvas reológicas são relativamente semelhantes, contudo, para as salsichas de FDAU, registaram-se sempre, valores de G' , inferiores aos das salsichas Controlo. Durante a fase de aquecimento inicial verifica-se um aumento do G' , seguido de alguma estagnação. Este aumento inicial, até próximo dos 37 °C, está associado ao fenómeno do *setting* (Gómez-Guillén *et al.*, 1997). Isto demonstra o contributo das ligações de *cross-linking* entre as proteínas, na formação das propriedades viscoelásticas dos géis. Aproximadamente a partir dos 42 °C, começa a verificar-se uma diminuição de G' , que está relacionada com a desnaturação das cadeias pesadas (hélices- α) da miosina (Romero *et al.*, 2009). A terceira fase é caracterizada por um aumento bastante acentuado de G' , que corresponde à agregação das proteínas e à consequente formação do gel (Romero *et al.*, 2009; Roussel & Cheftel, 1990; Sano *et al.*, 1990). As ligações dissulfureto desempenham, nesta fase, um papel importante na gelificação proteica como resultado do aquecimento a elevada temperatura (Lanier *et al.*, 2005).

A incorporação da FDAU afectou claramente a formação do gel proteico. A elevada dimensão dos grãos desta fibra, levou a uma perturbação da formação do gel, enfraquecendo a sua estrutura. Contudo, mesmo no produto com FDAU os valores de G' alcançados são relativamente elevados. Com uma granulometria mais fina da FDAU, provavelmente, já seria possível alcançar valores de G' semelhantes aos obtidos no produto Controlo.

Tabela 4.2 – Propriedades texturais, exsudação e proteína ao longo do tempo das salsichas Controlo e de FDAU.^{a,b}

ARMAZENAMENTO (Dias)	SALSICHAS CONTROLO				
	Teste de Dobragem	Elasticidade (%)	Dureza (N)	Exsudação (%)	Proteína (%)
1	3,0 ± 0,0 ^a	56,8 ± 3,4 ^a	49,1 ± 2,6 ^{bc}	0,0 ± 0,0 ^a	12,3 ± 0,4 ^a
14	2,7 ± 0,6 ^{ab}	59,7 ± 0,8 ^a	49,4 ± 5,1 ^{bc}	0,4 ± 0,1 ^{ab}	n.a
28	3,0 ± 0,0 ^a	59,8 ± 2,0 ^a	50,0 ± 6,2 ^{bc}	0,5 ± 0,2 ^{ab}	n.a
42	2,0 ± 0,0 ^{ab}	57,1 ± 3,1 ^a	55,0 ± 4,5 ^c	0,6 ± 0,2 ^{abc}	n.a
63	2,3 ± 0,6 ^{ab}	59,1 ± 2,2 ^a	53,1 ± 4,1 ^c	0,6 ± 0,2 ^{abc}	n.a
77	2,0 ± 0,0 ^{ab}	58,4 ± 1,5 ^a	58,6 ± 8,3 ^c	1,7 ± 0,0 ^{cde}	n.a
98	2,0 ± 0,0 ^{ab}	57,6 ± 4,3 ^a	55,4 ± 13,0 ^c	2,0 ± 0,1 ^{de}	13,6 ± 0,4 ^b

ARMAZENAMENTO (Dias)	SALSICHAS DE FDAU				
	Teste de Dobragem	Elasticidade (%)	Dureza (N)	Exsudação (%)	Proteína (%)
1	2,0 ± 0,0 ^{ab}	35,4 ± 1,1 ^b	29,9 ± 4,6 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	12,1 ± 0,4 ^a
14	2,0 ± 0,0 ^{ab}	38,8 ± 4,4 ^b	39,8 ± 3,0 ^{ab}	0,5 ± 0,3 ^{ab}	n.a
28	1,7 ± 0,6 ^b	38,0 ± 4,0 ^b	31,6 ± 4,7 ^a	0,8 ± 0,2 ^{abc}	n.a
42	1,7 ± 0,6 ^b	30,0 ± 5,2 ^b	35,5 ± 6,1 ^a	1,0 ± 0,2 ^{abcd}	n.a
63	1,7 ± 0,6 ^b	38,3 ± 3,4 ^b	38,4 ± 4,7 ^{ab}	1,4 ± 0,8 ^{bcde}	n.a
77	1,7 ± 0,6 ^b	39,6 ± 2,1 ^b	36,7 ± 3,7 ^a	2,5 ± 0,0 ^{ef}	n.a
98	1,7 ± 0,6 ^b	32,9 ± 4,3 ^b	39,3 ± 6,2 ^{ab}	3,1 ± 0,5 ^f	12,7 ± 0,0 ^a

^a Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão.

^b Dentro de cada coluna os valores com letras diferentes são significativamente diferentes entre si (p < 0,05).

n.a – não analisado.

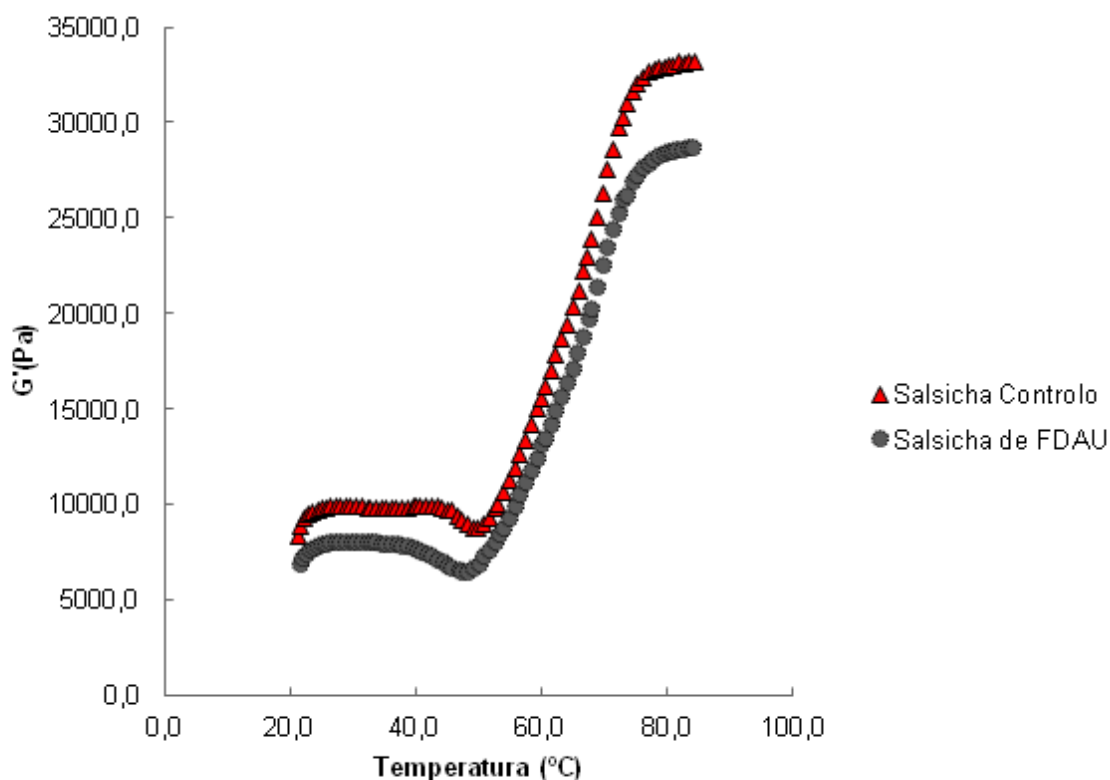


Figura 4.5 – Perfil reológico dinâmico das massas das salsichas Controlo e de FDAU.

4.3.3. Análises Microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas, realizadas durante os 98 dias do estudo, são apresentados na Figura 4.6. A aplicação simultânea de, tratamento térmico (cozedura a 75 °C durante 15 minutos e “pasteurização” a 90 °C durante 10 minutos), embalagem a vácuo (40mbar), armazenamento em refrigeração ($2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) e adição de sal (1.0%, w/w), permitiu manter uma qualidade microbiológica aceitável, dos produtos, ao longo de todo o estudo. O tratamento térmico eliminou, efectivamente, todos os microrganismos inicialmente presentes nas massas das salsichas.

A formulação das salsichas teve efeito ($p < 0,05$) nas contagens das bactérias produtoras de H_2S (sulfitorredutoras), uma vez que as salsichas Controlo apresentaram uma média (de todas as datas de amostragem) de contagens logarítmicas (log UFC/g) de $0,59 \pm 1,06$ e a média das salsichas de FDAU apenas foi de $0,26 \pm 0,67$ (a amostra correspondente ao 77 ° dia, das salsichas de FDAU, pode ser considerada um *outlier*, porque todas as datas de amostragem, incluindo a última não apresentaram contagens). Relativamente às contagens viáveis totais (CVT) a 6,5 e a 30 °C, não houve nenhum efeito significativo associado à

formulação, mas o crescimento microbiano começou (63º dia) com valores mais elevados nas salsichas Controlo, do que, nas salsichas de FDAU. Portanto, a adição de FDAU parece ter tido algum efeito antimicrobiano. Outros autores (Katalinić *et al.*, 2010), também já relataram a actividade antimicrobiana dos extractos de peles de uvas brancas.

Por outro lado, o tempo de armazenamento induziu ($p < 0,05$) algumas modificações nos parâmetros microbiológicos, nomeadamente, nas contagens viáveis totais a 6,5 e a 30 °C e nas contagens das bactérias produtoras de H₂S (sulfitorredutoras). No entanto, relativamente a outros parâmetros (*Enterobacteriaceae* e bactérias lácticas, esporos de bactérias produtoras de H₂S, *Staphylococcus coagulase*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*) não se registaram variações, tendo estes permanecido sempre negativos.

As contagens microbiológicas de bactérias mesófilas totais (30 °C), neste trabalho, foram mais elevadas que as observadas num anterior trabalho de Cardoso *et al.*, (2008b), onde foram produzidas salsichas de pescada, embaladas a vácuo, pasteurizadas e mantidas em condições semelhantes (2 °C \pm 1 °C durante um período de 80 dias). Provavelmente, isto pode ser devido ao facto das salsichas de corvina conterem um teor de sal inferior ao das salsichas de pescada (1,0% vs 2,3%).

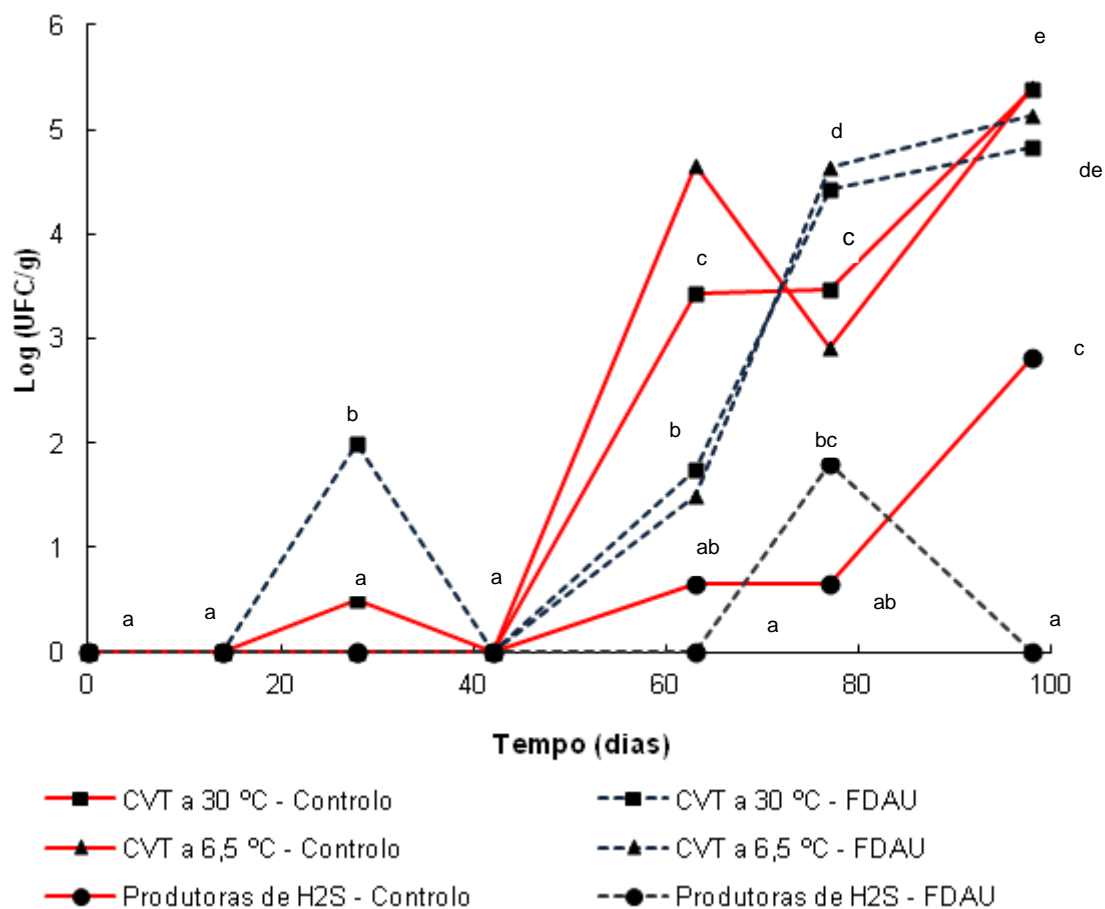


Figura 4.6 – Parâmetros microbiológicos (logaritmo decimal) das salsichas (Controlo e de FDAU) ao longo do tempo.^{a,b,c}

^a As médias de cada parâmetro microbiológico com letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

^b Não foram encontradas diferenças significativas para ambas as salsichas relativamente às CVT a 6,5 °C.

^c CVT – Contagens Viáveis Totais.

4.3.4. Cor e pH

Os resultados da cor e do pH são apresentados na Tabela 4.3. A formulação das salsichas teve um efeito significativo ($p < 0,05$) nos parâmetros da cor das salsichas de corvina. Ou seja, as salsichas de FDAU foram mais escuras e mais amareladas que as salsichas Controlo. Relativamente ao efeito do tempo de armazenamento, as salsichas Controlo, após o 42º dia, apresentaram um ligeiro aumento do parâmetro de luminosidade (*Whiteness*), enquanto, nas salsichas de FDAU houve uma ligeira diminuição do parâmetro a^* , pelo que o produto ficou menos avermelhado, no 98º dia do estudo. As diferenças detectadas para os parâmetros, luminosidade (*Whiteness*), a^* e b^* foram devidas à FDAU, que apresentava uma cor amarelada. A quase ausência de variação da cor, ao longo do tempo de armazenamento, pode estar relacionada com os baixos valores de exsudação registados, não havendo por isso uma lixiviação dos pigmentos dos produtos.

Quanto ao pH, as salsichas de FDAU apresentaram valores mais baixos que as salsichas Controlo (média global de todas as datas de amostragem, $5,92 \pm 0,06$ vs $6,26 \pm 0,05$). Esta variação pode ser devida a efeitos indirectos da FDAU, que provavelmente podem levar a exposição de grupos mais ácidos das proteínas, ou, por outro lado, ser a própria FDAU mais ácida que a FD de ervilha (Swe). Resultados semelhantes a estes já foram observados por outros autores, que aplicaram FD de pêssago a salsichas de porco (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999).

Tabela 4.3 – Cor e pH das salsichas Controlo e de FDAU ao longo do tempo.^{a,b}

SALSICHAS CONTROLO				
ARMAZENAMENTO (Dias)	Luminosidade (Whiteness)	a*	b*	pH
1	76,5 ± 0,3 ^b	-1,66 ± 0,03 ^a	7,39 ± 0,05 ^{ab}	6,30 ± 0,01 ^a
14	76,8 ± 0,4 ^{bc}	-1,58 ± 0,07 ^{ab}	7,77 ± 0,23 ^b	6,26 ± 0,04 ^a
28	77,1 ± 0,3 ^{bcd}	-1,59 ± 0,03 ^{ab}	7,31 ± 0,13 ^a	6,29 ± 0,03 ^a
42	77,3 ± 0,3 ^{bcd}	-1,56 ± 0,04 ^{ab}	7,64 ± 0,22 ^{ab}	6,28 ± 0,03 ^a
63	77,5 ± 0,2 ^{cd}	-1,58 ± 0,03 ^{ab}	7,56 ± 0,13 ^{ab}	6,21 ± 0,02 ^a
77	78,0 ± 0,2 ^d	-1,42 ± 0,06 ^b	7,50 ± 0,35 ^{ab}	6,20 ± 0,01 ^a
98	77,5 ± 0,2 ^{cd}	-1,49 ± 0,05 ^{ab}	7,47 ± 0,13 ^{ab}	6,28 ± 0,11 ^a
ARMAZENAMENTO (Dias)	SALSICHAS DE FDAU			
1	72,1 ± 0,5 ^a	1,07 ± 0,11 ^{de}	8,89 ± 0,13 ^{cd}	5,90 ± 0,02 ^c
14	72,8 ± 0,3 ^a	1,13 ± 0,16 ^e	9,21 ± 0,09 ^d	5,86 ± 0,02 ^c
28	72,5 ± 0,4 ^a	1,06 ± 0,09 ^{de}	8,89 ± 0,17 ^{cd}	5,90 ± 0,04 ^c
42	72,4 ± 0,4 ^a	1,01 ± 0,09 ^{cde}	8,71 ± 0,03 ^c	5,94 ± 0,03 ^c
63	72,5 ± 0,6 ^a	0,99 ± 0,05 ^{cde}	8,72 ± 0,07 ^c	5,88 ± 0,03 ^c
77	72,8 ± 0,5 ^a	0,89 ± 0,18 ^{cd}	8,58 ± 0,16 ^c	5,90 ± 0,04 ^c
98	72,6 ± 0,3 ^a	0,82 ± 0,07 ^c	8,56 ± 0,24 ^c	6,05 ± 0,01 ^b

^a Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão.

^b Dentro de cada coluna os valores com letras diferentes são significativamente diferentes entre si (p < 0,05).

4.3.5. Actividade de Eliminação de Radicais, Poder Redutor e Substâncias Reactivas ao Ácido Tiobarbitúrico

Os valores de actividade de eliminação de radicais (RSA), poder redutor (PR) e substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são apresentados na Tabela 4.4. As salsichas Controlo, apresentaram uma RSA significativamente (p < 0,05) menor que as salsichas de FDAU (82,1% – 85,4% vs 90,0% – 91,0%). No entanto, no que respeita a este parâmetro, não houve nenhuma evolução, para ambas as salsichas, ao longo de todo o tempo de armazenamento. Da mesma forma, as salsichas Controlo tiveram um menor PR que as salsichas de FDAU. Enquanto o PR das salsichas Controlo, variou entre 4,16 ± 0,06 e 4,24 ± 0,28 mg eq. ácido ascórbico/g (sem significância estatística), o PR das salsichas de

FDAU diminuiu ($p < 0,05$), passando de $9,10 \pm 0,52$ para $8,13 \pm 0,06$ mg eq. ácido ascórbico/g. Tanto os valores da RSA como do PR indicaram que a incorporação da FDAU teve um efeito positivo na capacidade antioxidante das salsichas.

A respeito das TBARS, não foi detectada nenhuma variação ao longo do tempo de armazenamento. No entanto, foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações das salsichas, mostrando, as salsichas Controlo, níveis mais elevados de MA (malonaldeído), independentemente do tempo (a média global de todas as datas de amostragem foi superior à das salsichas de FDAU, $1,77 \pm 0,30$ mg MA/kg vs $0,91 \pm 0,13$ mg MA/kg). Os resultados das TBARS estão em concordância com os valores das RSA e do PR, mostrando o elevado potencial antioxidante das salsichas de FDAU. Neste sentido, é possível dizer que a FDAU protegeu, efectivamente, os ácidos gordos, prevenindo a formação de compostos secundários da oxidação (medidos através das TBARS), tendo sido também consumido algum PR durante o processo. Este PR pode ser atribuído aos compostos fenólicos encontrados na FDAU ($42,1 \pm 2,5$ mg/g) (este valor foi determinado no INIA, no âmbito de estudos complementares). De facto, os polifenóis das uvas têm um poder antioxidante considerável, baseado na acção combinada dos polifenóis extraíveis (antocianinas, flavonoides, flavan-3-óis e ácidos fenólicos) e dos polifenóis não-extraíveis (proantocianidinas poliméricas e taninos hidrosolúveis de elevado peso molecular), ambos capazes de eliminar radicais (Sanchez-Alonso *et al.*, 2007b). De acordo com Pazos *et al.* (2005), uma combinação óptima de um grau de polimerização de procianidina e uma percentagem de ésteres de ácido gálico, nas fibras de uva branca, pode ajudar a explicar a elevada capacidade antioxidante dos polifenóis da uva, tal como foi observado nas salsichas de FDAU. Este mesmo efeito da FDAU já foi observado em outros produtos, onde a FDAU aumentou significativamente ($p < 0,05$) o efeito da RSA em hambúrgueres de frango, crus e cozinhados (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2009). Num outro estudo, onde se incorporou FD de uva branca em produtos de pescado reestruturados e congelados, feitos a partir de carapau (*Trachurus trachurus*), a RSA também aumentou, prevenindo a oxidação lipídica, medida pelas TBARS (Sánchez-Alonso *et al.*, 2008).

No entanto, é importante frisar que mesmo nas salsichas Controlo, o valor das TBARS nunca excedeu os 2,2 mg MA/kg, sendo portanto menor que o nível máximo aceitável ($1-2 \mu\text{mol MA/g}$ de gordura ou $\approx 4-8$ mg MA/kg), tal como proposto por Connell (1975) para os produtos da pesca. Além disso, o perfil de ácidos gordos não apresentou variações entre o início e o fim do estudo, não indicando, por isso, degradação dos ácidos gordos mais sensíveis aos fenómenos de oxidação, os $\omega 3$ PUFA. Num estudo com produtos de pescado reestruturados e congelados (Sánchez-Alonso *et al.*, 2008), também se encontram outros resultados semelhantes: o valor das TBARS no produto Controlo (sem FDAU) variou entre

0,5 e 2,5 mg de MA/kg, enquanto o produto com 4% de FDAU nunca ultrapassou 1,0 mg MA/kg, mesmo após 6 meses de armazenamento. Além disso, os resultados estão em concordância com a análise sensorial (ponto **4.3.6**), uma vez que nenhum provador detectou aroma ou sabor a ranço, mesmo nas salsichas Controlo, após 98 dias em refrigeração. A ausência de uma tendência crescente e contínua, durante o tempo de armazenamento, já tinha sido previamente observada num outro trabalho com salsichas embaladas sob vácuo (Cardoso *et al.*, 2008b), preparadas a partir de pescada. Contudo, noutros estudos, já foi relatada uma correlação clara entre as TBARS e o tempo de armazenamento em condições de vácuo (Panpipat & Yongsawatdigul, 2007).

Estes resultados mostraram que a FD, preparada a partir de uvas brancas da casta Arinto, é na realidade uma fibra com elevado poder antioxidante, sendo o nome, fibra dietética antioxidante de uva (FDAU), muito adequado para descrever esta fibra.

Tabela 4.4 – TBARS, RSA e PR das salsichas Controlo e de FDAU ao longo do tempo de armazenamento.^{a,b}

SALSICHAS CONTROLO			
ARMAZENAMENTO (Dias)	TBARS (mg MA/kg)	PR (mg eq. ácido ascórbico /g)	RSA (%)
1	2,08 ± 0,09 ^a	4,16 ± 0,06 ^a	85,4 ± 0,5 ^a
28	2,16 ± 0,00 ^a	n.a	n.a
42	1,51 ± 0,24 ^a	n.a	n.a
63	1,71 ± 0,30 ^a	n.a	n.a
77	1,50 ± 0,27 ^a	n.a	n.a
98	1,59 ± 0,06 ^a	4,24 ± 0,28 ^a	82,1 ± 1,3 ^a

ARMAZENAMENTO (Dias)	SALSICHAS DE FDAU		
1	1,10 ± 0,04 ^a	9,10 ± 0,52 ^c	91,0 ± 3,8 ^b
28	0,97 ± 0,04 ^a	n.a	n.a
42	0,89 ± 0,05 ^a	n.a	n.a
63	0,78 ± 0,04 ^a	n.a	n.a
77	0,78 ± 0,01 ^a	n.a	n.a
98	0,84 ± 0,04 ^a	8,13 ± 0,60 ^b	90,0 ± 1,3 ^b

^a Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão.

^b Dentro de cada coluna os valores com letras diferentes são significativamente diferentes entre si (p < 0,05).

n.a – não analisado.

4.3.6. Análise Sensorial

Os resultados da análise sensorial encontram-se na Tabela 4.5. Não foram detectadas diferenças significativas, entre os produtos, no início do tempo de armazenamento. No entanto, a adição de FDAU, aos produtos, levou a alguns efeitos significativos (p < 0,05) ao longo do tempo de armazenamento. Com o decorrer do estudo, as salsichas de FDAU foram percebidas como ficando mais escuras, menos elásticas, menos coesas, menos suculentas e também com menor oleosidade. A textura e o aroma e sabor desagradável também foram ficando mais acentuados. Isto pode ser visto através da comparação

estatística das médias, de todas as datas de amostragem, dos dois tipos de salsicha: elasticidade, $2,5 \pm 0,8$ vs $1,2 \pm 0,7$, coesividade, $3,0 \pm 0,9$ vs $1,4 \pm 0,8$, suculência, $2,0 \pm 0,8$ vs $0,9 \pm 0,7$, oleosidade, $1,3 \pm 0,7$ vs $0,8 \pm 0,6$, textura desagradável, $0,6 \pm 0,7$ vs $3,3 \pm 1,5$ e aroma desagradável, $0,4 \pm 0,5$ vs $2,0 \pm 1,7$, para as salsichas Controlo e as salsichas de FDAU, respectivamente. As outras propriedades sensoriais mantiveram-se inalteradas.

Em relação ao tempo de armazenamento, os produtos demonstraram uma estabilidade significativa, com excepção para a textura desagradável. Enquanto para as salsichas Controlo, os provadores detectaram uma textura desagradável no último dia de amostragem (98º dia), para as salsichas de FDAU, a textura desagradável começou a aumentar significativamente ($p < 0,05$), a partir do 28º dia do estudo. Ao longo de todo o período de armazenamento, nunca foi detectado nenhum aroma ou sabor a ranço.

A rápida perda de qualidade, relativamente à textura, nas salsichas de FDAU, derivou principalmente da granulometria que a FDAU apresentava ($<1000 \mu\text{m}$ vs $<400 \mu\text{m}$ para a Swe - fibra dietética que foi parcialmente substituída por FDAU), tornando as salsichas mais secas, granulosas e menos coesas. Para ultrapassar este problema, a solução passaria por uma moagem mais fina da FDAU, de modo a alcançar uma granulometria semelhante à das fibras dietéticas comerciais. Uma outra alternativa seria incorporar menos FDAU nas salsichas de corvina, garantindo no entanto que o efeito antioxidante significativo era assegurado. Na verdade, num outro estudo (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2009), a incorporação (até 2,0%, w/w) de FDAU ($<500 \mu\text{m}$) em hambúrgueres, não revelou nenhum impacto negativo, associado à FD.

O aumento do parâmetro da textura desagradável pode também estar relacionado com processos autolíticos derivados de enzimas e reacções químicas. Ao contrário da actividade microbiológica, estas reacções não produzem odores característicos (Truelstrup *et al.*, 1996). Como as contagens microbiológicas foram reduzidas, a ausência deste tipo de odores está explicada. Por fim, a apreciação global indicou que as salsichas Controlo foram mais agradáveis do que as salsichas de FDAU.

Tabela 4.5 – Parâmetros sensoriais das salsichas de corvina (Controlo e de FDAU) ao longo do tempo.^{a,b}

ARMAZENAMENTO (Dias)	SALSICHAS CONTROLO							
	Aroma desagradável	Elasticidade	Dureza	Coesividade	Suculência	Oleosidade	Textura desagradável	Sabor desagradável
1	0,0 ± 0,0 ^a	2,8 ± 1,0 ^{cde}	2,5 ± 1,3 ^a	2,8 ± 1,5 ^{ab}	2,8 ± 0,5 ^c	1,8 ± 1,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
14	0,3 ± 0,5 ^a	3,3 ± 0,5 ^e	1,8 ± 1,0 ^a	3,3 ± 1,0 ^b	2,0 ± 0,8 ^{abc}	1,3 ± 0,5 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,5 ^a
28	0,0 ± 0,0 ^a	3,0 ± 0,8 ^{de}	2,8 ± 1,0 ^a	3,3 ± 1,0 ^b	2,5 ± 1,0 ^{bc}	1,5 ± 0,6 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,5 ^a
42	0,0 ± 0,0 ^a	2,5 ± 0,6 ^{bcde}	2,8 ± 1,0 ^a	2,8 ± 0,5 ^{ab}	2,5 ± 0,6 ^{bc}	1,5 ± 1,0 ^a	0,3 ± 0,5 ^{ab}	0,5 ± 0,6 ^a
63	0,3 ± 0,5 ^a	2,3 ± 0,5 ^{abcde}	3,3 ± 1,0 ^a	3,3 ± 1,0 ^b	1,5 ± 0,6 ^{abc}	1,0 ± 0,8 ^a	0,8 ± 0,5 ^{ab}	0,5 ± 0,6 ^a
77	0,3 ± 0,5 ^a	2,0 ± 0,0 ^{abcde}	2,8 ± 1,0 ^a	3,3 ± 1,0 ^b	1,5 ± 0,6 ^{abc}	0,8 ± 0,5 ^a	1,3 ± 0,5 ^{ab}	0,5 ± 0,6 ^a
98	0,8 ± 1,0 ^a	1,5 ± 0,6 ^{abcd}	3,0 ± 1,8 ^a	2,8 ± 0,5 ^{ab}	1,5 ± 0,6 ^{abc}	1,0 ± 0,0 ^a	1,8 ± 0,5 ^{bc}	0,5 ± 0,6 ^a

ARMAZENAMENTO (Dias)	SALSICHAS DE FDAU							
	Aroma desagradável	Elasticidade	Dureza	Coesividade	Suculência	Oleosidade	Textura desagradável	Sabor desagradável
1	0,0 ± 0,0 ^a	2,0 ± 0,8 ^{abcde}	2,5 ± 1,7 ^a	2,3 ± 1,0 ^{ab}	1,3 ± 0,5 ^{abc}	1,3 ± 0,5 ^a	1,0 ± 0,8 ^{ab}	0,8 ± 0,5 ^a
14	0,0 ± 0,0 ^a	1,0 ± 0,0 ^{ab}	1,8 ± 1,5 ^a	1,5 ± 1,0 ^{ab}	1,0 ± 0,8 ^{abc}	0,8 ± 0,5 ^a	1,8 ± 1,3 ^{bc}	1,3 ± 1,5 ^a
28	1,0 ± 1,4 ^a	1,3 ± 0,5 ^{abc}	2,5 ± 1,7 ^a	1,3 ± 0,5 ^{ab}	0,8 ± 1,0 ^{ab}	0,5 ± 0,6 ^a	3,0 ± 0,0 ^{cd}	1,5 ± 1,9 ^a
42	0,5 ± 0,6 ^a	1,5 ± 0,6 ^{abcd}	2,3 ± 1,0 ^a	1,5 ± 0,6 ^{ab}	1,3 ± 1,0 ^{abc}	1,0 ± 0,8 ^a	3,8 ± 0,5 ^{de}	2,5 ± 1,7 ^a
63	0,5 ± 0,6 ^a	1,0 ± 0,8 ^{ab}	2,8 ± 1,7 ^a	1,5 ± 0,6 ^{ab}	0,5 ± 0,6 ^a	0,5 ± 0,6 ^a	4,5 ± 0,6 ^{de}	3,0 ± 2,0 ^a
77	1,0 ± 1,2 ^a	0,8 ± 0,5 ^a	2,0 ± 1,4 ^a	1,3 ± 1,3 ^{ab}	1,0 ± 0,8 ^{abc}	0,8 ± 0,5 ^a	4,8 ± 0,5 ^e	2,5 ± 1,7 ^a
98	0,8 ± 1,0 ^a	1,0 ± 0,8 ^{ab}	1,8 ± 1,5 ^a	0,8 ± 0,5 ^a	0,5 ± 0,6 ^a	0,5 ± 0,6 ^a	4,5 ± 1,0 ^{de}	2,5 ± 1,9 ^a

^a Os valores apresentados correspondem à média ± desvio padrão.^b Dentro de cada coluna os valores com letras diferentes são significativamente diferentes entre si (p < 0,05).

4.4. Estimativa dos Custos de Produção das Salsichas de FDAU

Na Tabela 4.6 é apresentada uma estimativa dos custos de produção, associados ao fabrico de salsichas de corvina, com incorporação de fibra dietética antioxidante de uva (FDAU). O preço por cada quilo de corvina é de 3,00 €, sendo o rendimento em polpa de 50%, por cada quilo de peixe. Sabendo que as peles de uva (matéria-prima da FDAU) são um material de baixo valor comercial, considera-se que o preço FDAU deve ser semelhante, ou mesmo mais reduzido, que o das outras fibras comerciais utilizadas no estudo. Como tal foi assumido um valor máximo de 3,00 €/kg para este aditivo.

Tabela 4.6 – Preço dos ingredientes/aditivos e quantidades utilizadas na produção de salsichas de corvina com FDAU.*

Ingredientes/Aditivos	Quantidade (kg)	Preço Unitário - C/ IVA (€/kg)	Custo a Incorporar (€)
Polpa de Corvina	0,577	6,00	3,462
Água/Gelo	0,258	≈0	0,000
Sal	0,010	0,18	0,002
Caseinato de Sódio	0,013	9,00	0,117
Concentrado de Proteína de Soja	0,011	3,12	0,034
FDAU	0,030	3,00	0,09
Fibruline	0,052	3,20	0,166
Fécula de Batata	0,034	1,06	0,036
Swelite	0,009	2,25	0,020
MTGase	0,005	103,40	0,517
Aroma a Fumo	0,001	23,16	0,023
ESTIMATIVA (€/kg)	1,000		4,468

* O preço dos ingredientes/aditivos foi disponibilizado pelo IPIMAR.

Nesta estimativa, são apenas contabilizados os valores correspondentes ao preço de incorporação dos ingredientes e aditivos, estando excluídos todos os custos de produção e de mão-de-obra.

Tomando como referência o preço comercial de salsichas de porco, que ronda os 3,6 €/kg (inclui todos os custos de produção e mão-de-obra), as salsichas de corvina com FDAU, apenas contabilizando o preço dos ingredientes e aditivos, apresentam um valor relativamente superior, 4,47 €/kg. No entanto, trata-se de um produto de valor acrescentado, pouco calórico, rico em fibra dietética e extremamente completo a nível nutricional, o que reflecte uma escolha alimentar muito saudável.

4.5. Conclusão

As salsichas Controlo e de FDAU apresentaram um elevado valor nutricional, dado o seu baixo teor calórico, perfil de ácidos gordos, composição em aminoácidos e elevado teor de FD. Além disso, ambos os produtos apresentaram uma estabilidade notável durante todo o tempo de armazenamento, uma vez que, a composição química, o perfil de ácidos gordos (incluindo os $\omega 3$ PUFA – mais susceptíveis à oxidação), a exsudação, a cor e a textura, não apresentaram alterações significativas durante os 98 dias do estudo.

Foi registado algum crescimento microbiano (particularmente a partir do 63º dia), mas que nunca atingiu valores elevados que impeçam a comercialização. Isto pode ser atribuído à eficiência do processo de “pasteurização” e à preservação das salsichas em óptimas condições, embaladas a vácuo (40 mbar) e mantidas em refrigeração ($2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$).

A FDAU apresentou uma capacidade antioxidante eficaz, comprovada não só pelos valores da RSA e do PR, mas também, pelos baixos valores das TBARS. De facto, não foi detectado nenhum aroma ou sabor a ranço. Além disso, a FDAU parece ter tido um efeito antimicrobiano, atrasando um pouco o crescimento microbiano e registando-se menores valores nas contagens das bactérias produtores de H_2S .

Os resultados dos parâmetros texturais, da medição reológica dinâmica e da análise sensorial, apontaram para uma qualidade textural mais reduzida, nas salsichas de FDAU. Isto foi devido à elevada granulometria que a FDAU apresentava, algo que pode ser resolvido no futuro através de uma moagem mais fina desta fibra dietética. As salsichas de corvina com FDAU representam um produto de valor acrescentado pelo que, o seu preço será sempre um pouco mais elevado que o das típicas salsichas de carne.

Nota: Alguns dos resultados apresentados neste capítulo foram submetidos para publicação científica.

5. Considerações Finais

A nível mundial os recursos pesqueiros estão a ficar esgotados, o que tem levado à diminuição das capturas da pesca. Face a este cenário, praticamente em todo o mundo, o sector da aquacultura segue uma tendência de crescimento, pois é a forma mais eficaz de produzir proteína animal de qualidade, para satisfazer as necessidades alimentares da população humana.

O continente europeu é extremamente dependente da oferta externa de produtos da pesca. Reforçar a produção em aquacultura, principalmente na área do mediterrâneo, através da introdução de novas espécies, é essencial, para diversificar a oferta e contrariar esta dependência.

A corvina é um peixe de grande qualidade, muito apreciado em alguns países mediterrânicos e com excelentes características biológicas, para ser produzido em sistemas de aquacultura, o que tem feito com que se tenha vindo a tornar numa espécie emergente na aquacultura do mediterrâneo.

Com o objectivo de diversificar as ofertas comerciais de produtos da pesca, o desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados, inovadores, funcionais e de grande qualidade, a partir de polpas de corvina, provou-se viável neste trabalho. A qualidade da gelificação das polpas de corvina, não lavadas, foi realmente muito boa, algo que é essencial para o desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados. A capacidade de retenção de água dos produtos gelificados também foi boa e, o mesmo se pôde dizer dos parâmetros texturais, onde se obtiveram valores, de força do gel, superiores aos géis de qualidade padrão, produzidos a partir de *surimi* do escamudo do Alasca. A MTGase provou ser uma ferramenta tecnológica muito boa, na melhoria da capacidade gelificação das polpas de corvina com reduzidos teores de sal, demonstrando efeitos benéficos na textura dos produtos. As fibras dietéticas, nomeadamente a de Swe e o Carr+Kjc, melhoraram a textura e a capacidade de retenção de água, respectivamente, mostrando que são aditivos com bastante potencial para combinar com polpas de pescado.

As salsichas de FDAU apresentaram um elevado valor nutricional, dado o seu baixo teor calórico, perfil de ácidos gordos, composição em aminoácidos e elevado teor de FD. A incorporação da fibra de uva, nas salsichas de corvina, comprovou que esta fibra apresenta capacidade antioxidante, comprovada não apenas pela RSA e pelo PR, mas também pelos baixos valores de TBARS, registados durante o armazenamento. Por outro lado, a FDAU parece também ter tido um efeito antimicrobiano. Os resultados dos parâmetros texturais, da medição reológica dinâmica e da análise sensorial, apontaram para uma qualidade textural

mais reduzida, nas salsichas de FDAU. Isto foi devido à elevada granulometria que a FDAU apresentava, algo que pode ser resolvido no futuro através de uma moagem mais fina.

A nível de perspectivas futuras, os produtos reestruturados de corvina, desenvolvidos neste trabalho, podem apresentar um elevado potencial de mercado, no entanto, torna-se importante realçar os seguintes pontos:

Pontos fortes:

- Possibilidades de colocar as camadas mais jovens da população, que não apreciam produtos da pesca, a consumirem um produto agradável e com as mesmas vantagens nutricionais do pescado;
- As salsichas inserem-se num produto alimentar muito apreciado pelos jovens e crianças, admitindo-se que as escolas constituem um mercado com elevado potencial;
- É possível neste tipo de produtos reestruturados introduzir o sabor mais adequado para cada mercado alvo;
- A nível nutricional as salsichas de corvina são um produto extremamente completo e apresentam teores de gordura muito inferiores aos das típicas salsichas de carne;
- Podem ser reformuladas para atingirem segmentos de mercado específicos, na categoria de produtos *gourmet* ou mesmo como produtos nutracêuticos, que possam incluir suplementos nutricionais para pessoas com necessidades específicas;
- Cada vez mais os consumidores estão preocupados com as questões de saúde, estando dispostos a pagar valores mais elevados por produtos mais saudáveis.

Pontos fracos:

- Em Portugal é praticamente nula a produção de corvina de aquacultura pelo que se tornava necessário dinamizar essa produção, ou apostar numa importação mais forte;
- A indústria alimentar portuguesa ainda não se encontra muito sensibilizada para o desenvolvimento de produtos de pescado reestruturados;
- A divulgação deste tipo de produtos necessitaria de uma forte acção de marketing de forma a dar a conhecer aos consumidores os benefícios deste tipo de produtos;
- O custo situar-se-á ligeiramente acima dos valores médios praticados para as tradicionais salsichas de carne.

Referências Bibliográficas

A

Ackman, R. G. (1994). Seafood lipids, in *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*, Shahidi, F. and Botta, J. R.; Eds., Chapman & Hall, London, 34.

An, H., Peters, M.Y., Seymour, T.A. (1996). Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. *Trends in Food Science and Technology*, 7: 321-326.

Anderson, E.T., & Berry, B.W. (2001). Effects of inner pea fiber on fat retention and cooking yield in high fat ground beef. *Food Research International*, 34, 689-694. Anderson, J.W., Deakins, D.A., Floore, T.L., Smith, B.M., & Whitis, S.R. (1990).

Anderson, J.W., Deakins D.A., Floore T.L., Smith B.M. Whitis, S.R. (1990). Dietary fiber and coronary heart disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29: 95-147.

Ando, H., Adachi, M., Umeda, K., Matsuura, A., Nonaka, R.M., Uchino, R., Tanaka, H., Motoki, M. (1989). Purification and characteristics of novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53: 2613-2617.

Andrés, S.C., García M.E., Zaritzky N.E., Califano A.N. (2006). Storage stability of low-fat chicken sausages. *Journal of Food Engineering* 72: 311-319.

Anónimo (2005a). Swelite® Folha do Produto. Belgium Cosucra S.A.

Anónimo (2005b). Fibruline Instant® Folha do Produto. Belgium Cosucra S.A.

Anónimo(a). Disponível em: <http://kscades.free.fr/Recette%20Tartare%20de%20maigre.htm>. Consultado a 29-04-11.

Anónimo(b). Disponível em: <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?id=418> Consultado a 29-04-11.

Anónimo(c). Disponível em: <http://www.andromedagroup.eu/andromeda/products/fresh-fish/corvina> Consultado a 21-04-2011.

Anónimo(d). Disponível em: <http://www.aquamaps.org/receive.php>. Consultado a 27-04-11.

Anónimo(e). Disponível em: www.who.int/nutrition/topics/3_foodconsumption/en/index5.html Global and regional food consumption patterns and trends: Availability and consumption of fish. World Health Organization. Consultado a 18-08-11.

Anónimo(f). Disponível em: <http://www.ingredientsnetwork.com/profile/full/swelite-pea-fibre-cosucra-groupe-warcoing>. Consultado a 20-08-11.

Anónimo(g). Disponível em: <http://www.cosucra.com/Public/>. Consultado a 20-08-11.

AOAC (1984). Official methods of analysis of the AOAC. Washington: AOAC.

AOAC (1996). Sulfur amino acids in food and feed ingredients. Washington DC, USA: Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Communities International.

APROMAR (2009). *La Acuicultura Marina de Peces en España 2009*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Madrid. 72 pp.

B

Bandarra, N. M., Calhau, M. A., Oliveira, L., Ramos, M., Dias, M. G., Bártolo, H., Faria, M. R., Fonseca, M. C., Gonçalves, J., Batista, I., Nunes, M.L. (2004). Composição e valor nutricional dos produtos da pesca mais consumidos em Portugal. *Publicações Avulsas* do IPIMAR, ISSN 0872 – 914x, nº11, Lisboa.

Bandarra N. M., Campos R. M., Batista I., Nunes M. L., Empis J. M. (1999). Antioxidant synergy of α -tocopherol and phospholipids. *Journal of the American Oil Chemists Society* 76 (8): 905-913.

Barazi-Yeroulanos, L. (2010). Synthesis of Mediterranean Marine Finfish Aquaculture – A Marketing and Promotion Strategy. (FAO) Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma Italy.

Basurco, B., **Abellan**, E. (1999). Finfish diversification in the context of Mediterranean marine fish farming development. In: Abellan, E., Basurci, B. (Eds.), *Marine Finfish Diversification: Current Situation and Prospects in Mediterranean Aquaculture*, vol. 24B, pp. 9–25. Cah, FAO.

Bang, H.O., **Dyerberg**, J., (1972) Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic west coast Eskimos. *Acta Medical Scandinavia* 192: 85–94.

Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. 4th revised and extended Edition. Springer-Verlag Berlin.

Bechtel, P.J. (1986). Muscle development and contractile proteins. In: *Muscle as Food*. Bechtel, P.J. (ed.). Academic Press. U.S.A., pp. 2-31.

Bligh, E.G., & **Dyer**, W.J. (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemical Physiology*, 37, 911-917.

Bobek, P., Galbavy, S., Mariassyova, M. (2000). Effect of inuline on nutritional hypercholesterolemia and chemically induced precancerous lesions on rat colon. *Bulletin Protravinarskeho Vyskumu*, 39(3), 213–221.

Borderías, A.J., Pérez-Mateos, M., Solas, M., Montero, P. (1997). Frozen storage of high-pressure- and heat-induced gels of blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle: rheological, chemical and ultrastructure studies. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung A*, 205: 335-342.

Borderías, A.J., Sánchez-Alonso, I., Pérez-Mateos, M. (2005). New applications of fibres in foods: addition to fishery products. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 458-465.

Bourne, M. (1994). *Food texture and viscosity: concept and measurement*. London: Academic press.

C

Cárdenas, S. (2010). 3 - Cuadernos de Acuicultura - Crianza de la Corvina (*Argyrosomus regius*); DiScript Preimpresión, S. L. Madrid.

Cardoso, C., Mendes, R., Nunes, M.L. (2007). Effect of transglutaminase and carrageenan on restructured fish products containing dietary fibres. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1257-1264.

Cardoso, C., Mendes, R., Nunes, M.L. (2008a). Development of a healthy low fat fish sausage containing dietary fibre. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 276-283.

Cardoso, C., Mendes R., Pedro S., Nunes M.L. (2008b). Quality changes during storage of fish sausages containing dietary fibre. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 17(1): 73-95.

Cardoso, C., Mendes, R., Vaz-Pires, P., Nunes, M.L. (2009). Effect of dietary fibre and MTGase on the quality of mackerel surimi gels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 1648-1658.

Cardoso, C., Mendes, R., Vaz-Pires, P., Nunes, M.L. (2010). Effect of salt and MTGase on the production of high quality gels from farmed sea bass. *Journal of Food Engineering*, 101: 98-105.

Cardoso, C., Mendes, R., Vaz-Pires, P., Nunes, M.L. (2011a). Production of high quality gels from sea bass: effect of MTGase and dietary fibre. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1282-1290.

Cardoso, C., Mendes, R., Vaz-Pires, P., & Nunes, M.L. (2011b). Effect of MTGase, dietary fibre and UV irradiation upon heat-induced gilthead seabream (*Sparus aurata*) gels. *Food Science and Technology International*, 17(2), 155-165.

Cardoso, C., Mendes, R., Vaz-Pires, P., Nunes, M.L. (2011c). Chemical reagents as probes: Application to fish protein gels and detection of a cysteine TGase in hake. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 825-833.

CEAMGEL 1830® Folha do produto (2006). Porriño: Ceamsa.

Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., & Jiménez-Colmenero, F. (2011). Quality characteristics of low-salt restructured poultry with microbial transglutaminase and seaweed. *Meat Science*, 87, 373-380.

Cofrades S., Guerra M.A., Carballo J., Fernández-Martín F., Jiménez-Colmenero F. (2000). Plasma protein and soy fiber content effect on bologna sausage properties as influenced by fat level. *Journal of Food Science* 65(2): 281–287.

Connell, J.J. (1975). Control of fish quality. Farnham: Fishing News (Books) Ltd.

D

Dunstan, G. A., Baillie, H. J., Barret, S. M., Volkman, J. K. (1996). Effect of diet on the lipid composition of wild and cultured abalone, *Aquaculture*, 140, 115.

Dempster, T., Sanchez-Jerez, P. (2008). Aquaculture and Coastal Space Management in Europe: An Ecological Perspective. In: Holmer, M.; Black, K.; M. Durarte, C.; Marbà, N.; Karakassis, L (Eds), *Aquaculture in the Ecosystem*; Springer. Pp 87-116.

Deniz, H. (2009). Species diversification in Turkish aquaculture and meagre farming. Aquaculture Department, General Directorate of Agriculture Production and Development, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, 13p.

DGPA (2007). Programa operacional pesca 2007-2013. Direcção Geral das Pescas e Aquicultura.

E

European Commission (2008). Directorate-General for Maritime Affairs and Fisheries 'CFP Reform'. Green Paper: Reform of the Common Fisheries Policy, COM (2009)163. Belgium.

European Commission (2009) - COM (2008) 453 Final. Communication from the Commission to the European Parliament and to the Council on promoting the adaptation of the European Union fishing fleets to the economic consequences of high fuel prices. Belgium.

Esteban, A., Crilly, R. (2011). Fish Dependence – 2011 Update. The increasing reliance of the EU on fish from elsewhere. London, UK.

Esturk, O., Park, J.W., Thawornchinsombut, S. (2004). Thermal sensitivity of fish proteins from various species on rheological properties of gels. *Journal of Food Science*, 69: E412-E416.

F

FAOa. Disponível em: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en
Consultado a 21-04-2011.

FAO (1997). Aquaculture Development – Technical Guidelines for Responsible Fisheries. (FAO) Food and Agriculture Organization of the United Nations, ISSN 1020 – 5292; Rome.

FAO (2006). The State of World Fisheries and Aquaculture 2006. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome. ISSN 1020-5489.

FAO (2007). Cultured Aquatic Species Information Programme - Global Aquaculture Production. (FAO) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en>. Consultado a 11-06-11.

FAO (2008). Yearbook 2008 - Fishery and Aquaculture Statistics. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome; pg. xvi.

FAO (2009) - Aquaculture Production 1950 - 2007.

FAO (2010a). The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO - Fisheries and Aquaculture Department. Rome. ISSN 1020 – 5489; 197p.

FAO (2010b) - Aquaculture Production 1950–2008.

Fernández-Martín, F., López-López, I., Cofrades, S., Jiménez-Colmenero, F. (2009). Influence of adding Sea Spaghetti seaweed and replacing the animal fat with olive oil or a konjac gel on pork meat batter gelation. Potential protein/alginate association. *Meat Science*, 83, 209-217.

G

Gallaher, D., & Schneeman, B. O. (2003). Fibra alimentaria. In B. Bowman, & R. Russel, Conocimientos actuales sobre nutrición Organización Panamericana de la Salud Publicación Técnica No 592.

Garrido M.D., Auqui M., Martí N., Linares M.B. (2011). Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. *Food Science and Technology*.

Giese, J. (1995). Measuring physical properties of foods. Special report. *Food Technol.* 49 (2), 54-63.

Gilleland, G.M., Lanier, T.C., Hamann, D.D. (1997). Covalent bonding in pressure-induced fish protein gels. *Journal of Food Science*, 62: 713-716.

Gómez-Guillén, M.C., & Montero, P. (1996). Addition of hydrocolloids and non muscle proteins to sardine (*Sardina pilchardus*) mince gels. *Food Chemistry*, 56(4), 421-427.

Gómez-Guillén, M. C., Borderías, A. J., Montero, P. (1997). Thermal gelation properties of two different composition sardine (*Sardina pilchardus*) muscles with addition of non-muscle proteins and hydrocolloids. *Food Chemistry*, 58 (1-2), 81-87.

González-Paramaás, A.M., Esteban-Ruano S., Santos-Buelga C., Pascual-Teresa S., Rivas-Gonzalo J.C. (2004). Flavanol content and antioxidant activity in winery byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 234–238.

Griguelmo-Miguel, N., Abadías-Serós M.I., Martín-Belloso, O. (1999). Characterisation of low-fat high-dietary fibre frankfurters. *Meat Science* 52: 247-256.

H

Havea, P., Carr, A.J., Creamer, L.K. (2004). The roles of disulphide and non-covalent bonding in the functional properties of heat-induced whey protein gels. *Journal of Dairy Research*, 71, 330-339.

Henderson, J.W., Ricker R.D., Bidlingmeyer B.A., Woodward C. (2000). Rapid, Accurate, Sensitive and Reproducible Analysis of Amino Acids. Palo Alto, USA: Agilent Publication Number 5980-1193EN, Agilent Technologies.

Hernández, M.D., López, M.B., Alvarez, A., Ferrandini, E. García Garcia, B., Garrido, M.D. (2009). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry*, 114, 237–245.

Holmer, M., Black, K., M. Durarte, C., Marbà, N., Karakassis, L. (2008a). Aquaculture in the Ecosystem; Springer. pp. v-viii.

Holmer, M., Hansen, P. K., Karakassis, I., Borg, J. A., Schembri, P. J. (2008b). Monitoring of Environmental Impacts of Marine Aquaculture. In: Holmer, M., Black, K., M. Durarte, C., Marbà, N., Karakassis, L (Eds), Aquaculture in the Ecosystem; Springer. Pp 47 – 86.

Honda, T., Kai, I., Ohi, G. (1999). Fat and dietary fiber intake and colon cancer mortality: a chronological comparison between Japan and the United States. *Nutrition and Cancer-An International Journal*, 33(1), 95–99.

Huss, H.H. (1995). Quality and quality changes on fresh fish. *FAO Fisheries Technical paper* - 348. FAO, Rome. 203 pp.

I

INE (2010). Instituto Nacional de Estatística (INE) - Estatísticas da Pesca – 2010. Disponível em <http://www.ine.pt>. Consultado a 22/06/11.

IPIMAR (2011). Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INRB, I.P./L-IPIMAR) - Instituto Português de Investigação da Pesca e do Mar - Unidade de Inovação e Valorização dos Produtos da Pesca e da Aquacultura. Lisboa.

K

Katalinić V., Možina S.S., Skroza D., Generalić I., Abramović H., Miloš M., Ljubenkov I., Piskernik S., Pezo I., Terpinč P., Boban M. (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chemistry* 119: 715-723.

Kolakowska, A., Olley, J., Dunstan, G. (2003). Fish lipids. In: Z.E. Sikorski, A. Kolakowska, A (Eds), *Chemical and functional properties of lipids*, CRC Press, NY, pp. 221-264.

Kris-Etherton, P.M., Harris W.S., Appel L.J. & American Heart Association, Nutrition Committee (2002). Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 106: 2747-2757.

Kritchevsky, D., Bonfield, C. (1995). *Dietary fibre in health and disease*. St. Paul: Eagan Press.

Kumazawa, Y., Seguro, K., Takamura, M., Motoki, M., (1993). Formation of ϵ -(γ -glutamyl) lysine cross-link in cured horse mackerel meat induced by drying. *Journal of Food Science*, 58: 1062-1064,1083.

Kuraishi, C., Sakamoto, J., Yamanazaki, K., Susa, Y., Kuhara, C., Soeda, C. (1997). Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. *Journal of Food Science*, 62: 488-490, 515.

L

Lanier, T.C. (1994). Functional food protein ingredients from fish. In: *Seafood proteins* - Sikorski, Z.E., Pan, B.S., Shahidi, F. (Eds). Chapman and Hall, Inc. U.S.A., pp. 127-159.

Lanier, T.C., Carvajal, P., Yongsawatdigul, J. (2005). Surimi gelation chemistry. In: *Surimi and surimi seafood*. Park, J.W. (Ed.). CRC Press. U.S.A., pp. 435-489.

Lee, C.M., & Chung, K.H. (1989). Analysis of surimi gel properties by compression and penetration tests. *Journal of Texture Studies*, 20, 363-377.

Lee, N., Park, J.W. (1998). Calcium compounds to improve gel functionality of Pacific whiting and Alaska Pollock surimi. *Journal of Food Science*, 63: 969-974.

Love, R. M. (1970). *The Chemical Biology of Fishes*. Academic Press, London.

Love, R. M. (1988). *The Food Fishes: Their Intrinsic Variation and Practical Implications*. Van Nostrand Reinhold, New York.

Lowey, S., Risby, D. (1971). Light chains from fast and slow muscle myosins. *Nature*, 234: 81-85.

Ludwig, D. S., Pereira, M. A., Kroenke, C. H., Hilner, J. E., Van Horn, L., Slattery, M. L., et al. (1999). Dietary fiber, weight gain and cardiovascular disease risk factors in young adults. *Journal of American Medical Association*, 282(16), 1539–1546.

M

Magnusdóttir, E. (1995). Physical and chemical changes in stabilized mince from Pacific whiting during frozen storage. MS Thesis Oregon State University. U.S.A.

Mekki, N., Dubois, C., Charbonnier, M., Cara, L., Senft, M., Pauli, A. M., Jacobs, D. R. (1997). Effects of lowering fat and increasing dietary fiber on fasting and postprandial plasma lipids in hypercholesterolemic subjects consuming a mixed Mediterranean-Western diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, 66(6), 1443–1451.

Mendes, R., Gómez-Guillén, C., Montero, P. (1997). Effect of a new vacuum leaching technology on the textural characteristics of sardine mince. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung A* 204, 113–120.

Mendes R., Cardoso C., Pestana, C. (2009). Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry* 112: 1038-1045.

Manley, C., Mankoo, A., Dubosc, V. (2005). Surimi Seafood Flavors In: J.W. Park, *Surimi and surimi seafood*. Boca Raton: CRC press, pp. 709 - 745.

Mestre, P. (2008). *Elaboração de um projecto de uma unidade de piscicultura*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária; UTL - Faculdade de Medicina Veterinária; Lisboa.

Meyers, M.A., Chawla, K.K. (1998). *Mechanical behavior of materials*. Prentice-Hall. U.S.A.

Mitchell, C. S. (1986). Lipid profile of selected tissue in channel catfish as affected by harvesting season and diet. *Proceedings Catfish Processors Workshop*, Cooperative Ext. Serv., Mississippi State University.

Monfort, M. C. (2010). Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. *Studies and Reviews*, Nº 89. Food and Agriculture Organization of the United Nations, General Fisheries Commission for the Mediterranean. Rome.

Montero, P., Hurtado, J.L., Pérez-Mateos, M. (2000). Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosystem protein gels interacting with hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 14, 455-461.

Moreno, H., Cardoso, C., Solas, M.T., Borderías, A.J. (2009). Improvement of cold and thermally induced gelation of giant squid (*Dosidicus gigas*) surimi. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18: 312-330.

N

Nichols, P. D., Mooney, B., Virtue, P., Elliot, N. (1998). Nutritional Value of Australian Fish: Oil, Fatty Acid and Cholesterol of Edible Species, FRDC Project 95/122, CSIRO Marine Research, Fisheries Research and Development Corporation, 126.

Nielsen J., Hyldig G., Larsen E. (2002). 'Eating quality' of fish – A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 11(3/4): 125-141.

Niwa, E. (1992). Chemistry of surimi gelation. In: *Surimi technology*. Lanier, T.C., Lee, C. (eds.). Marcel Dekker, Inc. U.S.A. pp. 389-427.

Nunes, M.L., Bandarra, N.M., Batista, I. (2003). Fish products: contribution for a healthy food. *Electronic Journal of Environmental Agriculture Food Chemistry*. ISSN 1579 – 4377: 453 – 457.

Nunes, M.L., Batista, I., Bandarra, N.M., Morais, M.G., Rodrigues, P.O. (2008). Produtos da Pesca: Valor Nutricional e Importância para a Saúde e Bem-Estar dos Consumidores. Publicações Avulsas do IPIMAR, ISSN 0872 – 914x, nº18, Lisboa.

Nunes, M. L., Bandarra, M. N., Batista, I. (2011). Health benefits associated with seafood consumption. In: Alasalvar, C., Shahidi, F., Miyashita, K., Wanasundara, U. (Eds), *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*, Wiley Blackwell, UK, pp 369 – 376.

Nutricol GP 312 - Folha do produto (2008). Philadelphia: FMC Biopolymer.

O

Olsen, Y., Otterstad, O., Duarte C.M. (2008). Status and Future Perspectives of Marine Aquaculture. In: Holmer, M.; Black, K.; M. Duarte, C.; Marbà, N.; Karakassis, L (Eds), *Aquaculture in the Ecosystem*; Springer. Pp 293 – 319.

Ortiz, J., & Aguilera, J.M. (2004). Effect of kappa-carrageenan on the gelation of horse mackerel (*T. murphyi*) raw paste surimi-type. *Food Science and Technology International*, 10, 223-232.

Oyaizu, M. (1988). Antioxidative activities of browning products of glucosamine fractionated by organic-solvent and thin-layer chromatography. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology* 35 (11): 771–775.

Osburn, W.N. and Keeton, J.T. 1994. Konjac flour gel as fat substitute in low fat prerigor fresh pork sausage. *J. Food Sci.* 59(3),484-489.

P

Parisi, G., Martell, R., Barsalini, L., Peralta, J. P., Zotte, A. D. (2010). Textural, colour and proximate composition changes induced by cooking in fillets of meagre during the first days of storage. 40th Annual WEFTA Meeting 04 – 07 Oct 2010, Çeşme – İzmir, Turkey.

Panpipat, W., Yongsawatdigul J. (2007). Stability of potassium iodide and omega-3 fatty acids in fortified freshwater fish emulsion sausage. *LWT – Food Science and Technology* 41(3): 483-492.

Park, J.W. (1996). Temperature-tolerant fish protein gels using konjac flour. *Journal of Muscle Foods*, 7, 165-174.

Park, J.W. (2005a). Ingredient technology for surimi and surimi seafood. In: J.W. Park (ed), *Surimi and surimi seafood*. pp. 649-707. Boca Raton, USA: CRC press.

Park, J.W. (2005b). Appendix. In J.W. Park, *Surimi and surimi seafood*. Boca Raton: CRC press.

Pazos, M., Gallardo J.M., Torres J.L., Medina I. (2005). Activity of grape polyphenol as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry* 92: 547–557.

PENP (2007). Plano Estratégico Nacional para a Pesca 2007 – 2013.

Pérez-Mateos, M., Lourenço, H., Montero, P., Borderías, J. (1997). Rheological and chemical studies on high pressure-induced gels from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 44-49.

Pietrasik, Z., Jarmoluk, A. (2003). Effect of sodium caseinate and kappa-carrageenan on binding and textural properties of pork muscle gels enhanced by microbial transglutaminase addition. *Food Research International* 36 (3), 285–294.

Poli, B.M., Parisi, G., Zampacavallo, G., Iurzan, F., Mecatti, M., Lupi, P., Bonelli, A. (2003). Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish. *Aquaculture International* 11, 301–311.

Puupponen-Pimiä, R., Aura A.M., Oksman-Caldentey K.M., Myllärinen P., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Poutanen K. (2002). Development of functional ingredients for gut health. *Trends in Food Science and Technology* 13: 3-11.

Q

Quéro, J.C. (1989). Le maigre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Poissons, Scianidae) en Méditerranée occidentale. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 114 (4): 81-89.

Quéro, J.C., Vayne, J.J. (1997). Les poissons de mer des pêches françaises. Delachaux et Niestlé SA, Lausanne-Paris, France. 304 pp.

Quémener, L. (2002). Le maigre común (*Argyrosomus regius*). Biologie, pêche, marché et potentiel aquacole. Editions Ifremer, Plouzane, France. 31 pp.

R

Ramírez, J.A., Rodríguez-Sosa, R., Morales, O.G., Vázquez, M. (2000). Surimi gels from striped mullet (*Mugil cephalus*) employing microbial transglutaminase. *Food Chemistry*, 70, 443-449.

Ramírez, J.A., Del Ángel, A., Uresti, R.M., Velásquez, G., Vázquez, M. (2007). Low-salt restructured products from striped mullet (*Mugil cephalus*) using microbial transglutaminase or whey protein concentrate as additives. *Food Chemistry*, 102, 243- 249.

Ramírez-Suárez, J.C., Xiong, Y.L., Wang, B. (2001). Transglutaminase cross-linking of bovine cardiac myofibrillar proteins and its effect on protein gelation. *Journal of Muscle Foods*, 12: 85-96.

Ramírez-Suárez, J.C., Addo, K., Xiong, Y.L. (2005). Gelation of mixed myofibrillar/wheat gluten proteins treated with microbial transglutaminase. *Food Research International*, 38: 1143-1149.

Ramos-Martínez, E., Morales-González, O.G., Ramírez, J.A., García-Carreño, F.L., Montejano-Gaitán, J.G. (1999). Determinación de la presencia y el origen del fenómeno modori en surimi de cinco especies de pescado del Golfo de México. *Food Science and Technology International*, 5: 397-405.

Romero, A., Bengoechea, C., Cordobés, F., Guerrero, A. (2009). Application of thermal treatments to enhance gel strength and stability of high concentrated crayfish-based emulsions. *Food Hydrocolloids*, 23, 2346-2353.

Roussel, H., Cheftel, J.C. (1990). Mechanisms of gelation of sardine proteins: influence of thermal processing and of various additives on the texture and protein solubility of kamaboko gels. *International Journal of Food Science and Technology*, 25: 260-280.

Ruiter, A. (1995). Fish and Fishery Products – Composition, Nutritive Properties and Stability; CAB International, UK.

S

Saeki, H. (1996). Gel-forming ability and cryostability of frozen surimi processed with CaCl_2 -washing. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 62: 252-256.

Sainclivier, M. (1983). L' industrie alimentaire halieutique. Le poisson matière première. *Bulletin Scientifique et Technique. École Nationale Supérieure Agronomique et Centre de Recherches de Rennes*. Vol 1. p. 263.

Sánchez-Alonso, I., Ají-Maleki R., Borderías A.J. (2007a). Wheat fiber as a functional ingredient in restructured fish products. *Food Chemistry* 100: 1037-1043.

Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig A., Saura-Calixto F., Borderías A.J. (2007b). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chemistry* 101: 372–378.

Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig A., Saura-Calixto F., Borderías A.J. (2008). Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. *Food Science and Technology* 41: 42-50.

Sánchez-González, I., Carmona, P., Moreno, P., Borderías, J., Sánchez-Alonso, I., Rodríguez-Casado, A., Careche, M. (2008). Protein and water structural changes in fish surimi during gelation as revealed by isotopic H/D exchange and Raman spectroscopy. *Food Chemistry* 106, 56–64.

Sano, T., Noguchi, S.F., Matsumoto, J.J., Tsuchiya, T. (1990). Thermal gelation characteristics of myosin subfragments. *Journal of Food Science*, 55: 55-58.

Sáyago-Ayerdi, S.G., Brenes A., Goñi I. (2009). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. *Food Science and Technology* 42: 971-976.

Shimada, K., Fujikawa K., Yahara K., Nakamura, T. (1992). Antioxidant properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry* 40: 945-948.

Silva, J.L., Chamul, S.R. (2000). Composition of Marine and Freshwater Finfish and Shellfish Species and Their Products. In: Martin, R.E., Carter, E.P., Jr. Flick, G.J., Davis, L.M. (Eds), *Marine and Freshwater Products Handbook*. Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster, Pennsylvania 17604 U.S.A. pp. 31-45.

Stansby, M. E. (1962). Proximate composition in fish. In *Fish in Nutrition*, E. Heen and R. Kreuzer (eds.), pp. 55-60. London: Fishing News Books Ltd.

Sturrock, H., Newton, R., Paffrath, S., Bostock, J., Muir, J., Young, J., Immink A., Dickson, M. (2008). In: Eds: Ilias Papatryfon *Prospective Analysis of the Aquaculture Sector in the EU. PART 2: Characterisation of emerging aquaculture systems*. Scientific and Technical Reports, Spain.

Swelite® Folha do produto (2005). Warcoing: Cosucra.

T

Tacon, A.G.J. (2003). Global trends in aquaculture and compound aquafeed production. *International Aquafeed Directory 2003*: 8 – 23.

Taguchi, T., Ishizaka, H., Tanaka, M., Nagashima, Y., Amano, K. (1987). Protein-protein interaction of fish myosin fragments. *Journal of Food Science*, 52: 1103-1104.

Téllez-Luis, S.J., Uresti, R.M., Ramírez, J.A., Vázquez, M. (2002). Low-salt restructured fish products using microbial transglutaminase as binding agent. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 953-959.

Teubner, V. C. (2007). *Peixe e Marisco*; Teubner Editora, Munique – Alemanha.

Thebaudin J.Y., Lefebvre A.C., Harrington M., Burgeois C.M. (1997). Dietary fibers: nutritional and technological interest. *Trends in Food Science and Technology* 8: 41–48.

Truelstrup, L., Gill T., Drewes S., Huss H. (1996). Importance of autolysis and microbiological activity on quality of cold-smoked salmon. *Food Research International* 29(2): 181-188.

U

Uresti, R.M., Téllez-Luis, S.J., Ramírez, J.A., Vázquez, M. **(2004)**. Use of dairy proteins and microbial transglutaminase to obtain low-salt fish products from filleting waste from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry*, 86, 257-262.

V

Venugopal, V., **Shahidi**, F. **(1995)**. Value-added products from underutilized fish species. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(5): 431-453.

X

Xiong, G., Cheng, W., Ye, L., Du, X., Zhou, M., Lin, R., Geng, S., Chen, M., Corke, H., Cai, Y.Z. **(2009)**. Effects of konjac glucomannan on physicochemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Chemistry*, 116, 413-418.

W

Warriss, P. **(1996)**. Instrumental Measurement of Colour. In: *Meat Quality and Packaging*. Langfor, Bristol. Ed. Taylor, S., Raimundo, A., Severini, M., Smulders, F. Division of food animal science, School of Veterinary Sciences, University of Bristol. BS18 7DY, UK. European Consortium for Continuing Education in Advanced Meat and Science and technology (ECCEAMST). p. 221-231.

Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.- L., Hureau, J.- C., Nielsen, J., Tortonese, E. **(1986)**. *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO, Paris.

WHO (2002). Protein and amino acid requirement in human nutrition. Geneva, Switzerland: Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation on protein and amino acid requirements in human nutrition.

Wolever, T. M. S., & **Jenkins**, D. J. A. **(1993)**. Effect of fiber and foods on carbohydrate metabolism. In G. A. Spiller (Ed.), *Dietary fiber in human nutrition* 2nd ed. (pp. 111–152). Boca Raton, FL: CRC Press.

Y

Yildirim, H.K., Akcay Y.D., Guvenc U., Altindisli A., Sozmen, E.Y. **(2005)**. Antioxidant activities of organic grape, pomace, juice, must, wine and their correlation with phenolic content. *International Journal of Food Science and Technology* 40: 133–142.

Yilmaz, Y., Toledo R.T. **(2004)**. Major flavonoids in grape seeds and skins: Antioxidant capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 255–260.

Z

Zimmerman, P.A., Bissel, H.M. IV, & McIntosh, G.S. **(1996)**. Method of processing salmonoid fish. Arctic Alaska Seafoods Inc., US patent 5,846,594.

ANEXOS

Anexo I - Fotografias dos Produtos Gelificados de Corvina e das Salsichas de Corvina Controlo e de FDAU.



Figura Al.1 – Amostra de um produto gelificado de Corvina para determinação dos parâmetros texturais – Formulação E0.

Figura Al.2 – Amostra de um produto gelificado de Corvina para determinação dos parâmetros texturais – Formulação CaS.



Figura Al.3 – Salsichas de FDAU após o processo de enchimento.



Figura A1.4 – Salsichas Controlo após o processo de enchimento.



Figura A1.5 – Salsichas Controlo embaladas a vácuo.

Anexo II - Cor

No sistema CIELAB a cor é definida através dos parâmetros L^* , a^* e b^* . O eixo L^* representa a luminosidade (*Whiteness*), é expresso em % e tem como limites o 0 (preto) e o 100 (branco). As outras duas coordenadas a^* e b^* representam a cromaticidade (*Chroma*), a^* o eixo do vermelho ao verde e o b^* o eixo do azul ao amarelo, em unidade arbitrárias (Warriss, 1996). Qualquer medição com os valores L^* , a^* e b^* define exatamente a cor como um ponto numa esfera tridimensional (Figura All.1). Através das seguintes fórmulas calculam-se os valores de *Whiteness* e *Chroma*.

$$Chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$Whiteness = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

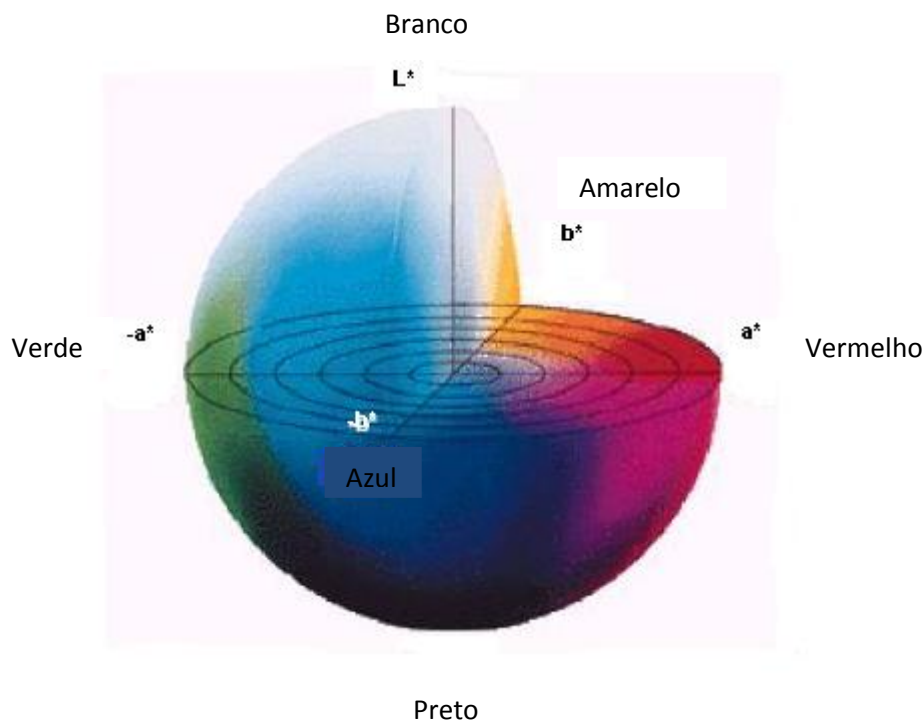


Figura All.1 – Representação esquemática do espaço de cores segundo o sistema CIELAB com os parâmetros L^* , a^* , b^* .

Fonte: Giese (1995)

Anexo III – Folha de Prova de Avaliação Sensorial

Data: __/__/11 Código: _____ Proveedor: _____

A) Aparência externa	0	1	2	3	4	5
<i>Cor</i> 0- clara a 5- escura						
B) Aroma	0	1	2	3	4	5
<i>A peixe</i> 0- ausente a 5- excessivo						
<i>A fumo</i> 0- ausente a 5- excessivo						
<i>Desagradável</i> 0- ausente a 5- excessivo						
C) Textura	0	1	2	3	4	5
<i>Elasticidade</i> 0- plástica a 5- elástica (plástico, meio brando, maleável, elástico)						
<i>Dureza</i> 0- tenra a 5- dura						
<i>Coesividade</i> 0- pouco coesa a 5- muito coesa						
<i>Suculência</i> 0- seca a 5- suculenta						
<i>Gordura</i> 0- pouco oleosa a 5- muito oleosa						
<i>Desagradável</i> 0- ausente a 5- excessiva						
D) Sabor	0	1	2	3	4	5
<i>A peixe</i> 0- ausente a 5- excessivo						
<i>A fumo</i> 0- ausente a 5- excessivo						
<i>Salgado</i> 0- ausente a 5- excessivo						
<i>Amargo</i> 0- ausente a 5- excessivo						
<i>Desagradável</i> 0- ausente a 5- excessivo						
<i>A quê?</i>						
E) Sensação residual (After Taste)	0	1	2	3	4	5
(avale a sensação que fica na boca após engolir)						
<i>A fumo</i> 0- ausente a 5- excessiva						
<i>Salgado</i> 0- ausente a 5- excessiva						
<i>Adstringência</i> 0- ausente a 5- excessiva						
<i>Oleosa</i> 0- ausente a 5- excessiva						